



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104910159 A

(43) 申请公布日 2015.09.16

(21) 申请号 201510243421.1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010.12.21

C07D 471/06(2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/4745(2006.01)

61/289563 2009.12.23 US

A61P 35/00(2006.01)

A61P 35/02(2006.01)

(62) 分案原申请数据

201080064457.9 2010.12.21

(71) 申请人 艾科尔公司

地址 美国麻萨诸塞州

(72) 发明人 D.P. 里德 N.R. 巴恩斯 J.C. 凯恩

C.A. 李 J. 陈 M.P. 雷蒙

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

代理人 高旭轶 万雪松

权利要求书4页 说明书53页 附图21页

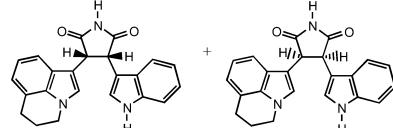
(54) 发明名称

纯化的吡咯并喹啉基 - 吡咯烷 -2,5- 二酮组合物和用于制备且使用其的方法

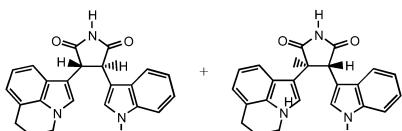
(57) 摘要

本发明涉及纯化的吡咯并喹啉基 - 吡咯烷 -2,5- 二酮组合物和用于制备且使用其的方法。本发明涉及 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型和 2 型多晶型物。本发明还涉及具有超过 99% 手性纯度的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮化合物，和制备这些化合物的方法。本发明还涉及包含这些 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮化合物的药物组合物。

(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮



(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮



1. 一种 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

2. 权利要求 1 的多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9、12.0、16.7、20.1 和 22.8 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

3. 权利要求 2 的多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9、12.0、13.2、16.4、16.7、17.2、20.1、20.3、20.8、22.8、23.7、28.6 和 30.4 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

4. 一种药物组合物, 其包含权利要求 1-3 中任一项的多晶型物和药学可接受的载体或赋形剂。

5. 一种 (±)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷。

6. 一种组合物, 其包含 (±)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷。

7. 权利要求 6 的组合物, 其包含超过 90% (±)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷。

8. 一种 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱。

9. 一种组合物, 其包含 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱。

10. 权利要求 9 的组合物, 其包含超过 90% (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱。

11. 权利要求 9 的组合物, 其包含小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮伪麻黄碱。

12. 一种手性纯化的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 其包含小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮。

13. 一种药物组合物, 其包含权利要求 12 的手性纯化的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮。

14. 一种用于制备 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的方法, 其包括:

a. 在第一种溶剂中混合 (±)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮与 (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱, 以形成固体 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱;

b. 用第一种溶剂的水性混合物洗涤在步骤 (a) 中形成的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+)- 伪麻黄碱固体;

c. 使来自步骤 (b) 的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 • (1S, 2S)- (+)- 伪麻黄碱与酸在有机溶剂中反应，并且分离所得到的溶液的有机层；

d. 洗涤来自步骤 (c) 的所述有机层；

e. 将第二种溶剂加入所述有机层中；

f. 将所述有机层浓缩直至所述溶液中第二种溶剂的量小于 5%；和

g. 从步骤 (f) 中的所述有机层结晶且在真空下干燥所得到的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮溶液，从而产生 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮。

15. 权利要求 14 的方法，其中所述第一种溶剂是非水溶剂。

16. 权利要求 14 的方法，其中所述第二种溶剂是非水溶剂。

17. 权利要求 14 的方法，其中步骤 c 中的所述有机溶剂是甲基四氢呋喃。

18. 权利要求 14 的方法，其进一步包括在步骤 (g) 后清洗 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮晶体。

19. 一种用于制备 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮的方法，其包括：

a. 在第一种溶剂中混合 (±)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮与环己基乙胺，以形成固体 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 • 环己基乙胺；

b. 用第一种溶剂的水性混合物洗涤在步骤 (a) 中形成的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 • 环己基乙胺固体；

c. 使来自步骤 (b) 的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 • 环己基乙胺与酸在有机溶剂中反应，并且分离所得到的溶液的有机层；

d. 洗涤来自步骤 (c) 的所述有机层；

e. 将第二种溶剂加入所述有机层中；

f. 将所述有机层浓缩直至所述溶液中第二种溶剂的量小于 5%；和

g. 从步骤 (f) 中的所述有机层结晶且在真空下干燥所得到的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮溶液，从而产生 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮。

20. 权利要求 19 的方法，其中所述第一种溶剂是非水溶剂。

21. 权利要求 19 的方法，其中所述第二种溶剂是非水溶剂。

22. 权利要求 19 的方法，其中步骤 c 中的所述有机溶剂是甲基四氢呋喃。

23. 权利要求 19 的方法，其进一步包括在步骤 (g) 后清洗 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 噻啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮晶体。

24. 一 种 用 于 制 备 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 方 法 , 其 包 括 :

- a. 混 合 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 • (1S,2S)-(+) - 伪 麻 黄 碱 和 酸 ;
- b. 将 醇 加 入 来 自 (a) 的 所 述 混 合 物 , 以 形 成 浆 ;
- c. 加 热 且 搅 拌 步 骤 (b) 中 形 成 的 所 述 浆 ;
- d. 冷 却 且 分 离 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 ;
- e. 用 第 一 种 溶 剂 洗 涤 步 骤 (d) 中 分 离 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 ;
- f. 使 来 自 步 骤 (e) 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 溶 解 于 第 二 种 溶 剂 中 , 以 形 成 溶 液 ;
- g. 将 第 三 种 溶 剂 加 入 (f) 中 的 溶 液 , 并 且 蒸 馏 溶 液 直 至 所 述 第 二 种 溶 剂 在 溶 液 中 的 量 小 于 5% ;
- h. 从 (g) 中 的 所 述 溶 液 结 晶 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 ;
- i. 任 选 地 , 加 入 第 四 种 溶 剂 , 以 熟 化 来 自 (h) 的 所 述 晶 体 ;
- j. 通 过 过 滤 分 离 来 自 (i) 的 所 述 晶 体 ;
- k. 用 第 三 种 溶 剂 和 第 四 种 溶 剂 的 混 合 物 洗 涤 来 自 (j) 的 所 述 晶 体 ; 和
- l. 在 真 空 下 干 燥 来 自 (k) 的 所 述 晶 体 , 从 而 产 生 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 。

25. 权 利 要 求 24 的 方 法 , 其 中 所 述 醇 是 甲 醇 、 乙 醇 或 其 混 合 物 。

26. 权 利 要 求 24 的 方 法 , 其 中 所 述 第 一 种 溶 剂 是 非 水 溶 剂 。

27. 权 利 要 求 24 的 方 法 , 其 中 所 述 第 二 种 溶 剂 是 非 水 溶 剂 。

28. 权 利 要 求 24 的 方 法 , 其 中 所 述 第 三 种 溶 剂 是 非 水 溶 剂 。

29. 权 利 要 求 24 的 方 法 , 其 中 所 述 第 四 种 溶 剂 是 水 性 溶 剂 。

30. 一 种 用 于 制 备 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 方 法 , 其 包 括 :

- a. 使 (±)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 溶 解 于 二 氯 甲 烷 中 , 且 分 离 (±)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 二 氯 甲 烷 ;
- b. 使 (±)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 二 氯 甲 烷 溶 解 于 第 一 种 溶 剂 中 ;
- c. 蒸 馏 步 骤 (b) 的 所 述 溶 液 直 至 所 述 溶 液 中 的 二 氯 甲 烷 水 平 按 重 量 计 < 0.1% ;
- d. 将 步 骤 (c) 的 所 述 溶 液 在 第 二 种 溶 剂 中 稀 释 ;
- e. 将 步 骤 (d) 的 所 述 溶 液 引 入 含 有 适 合 于 手 性 分 离 的 填 料 的 多 柱 层 析 系 统 内 ;
- f. 合 并 得 自 步 骤 (e) 中 的 系 统 的 所 得 到 的 萃 余 液 ; 和
- g. 结 晶 来 自 步 骤 (f) 的 所 述 萃 余 液 , 且 过 滤 所 得 到 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-i,j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲 哌 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 , 从 而 产 生 (-)- 反

式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

31. 权利要求30的方法,其中所述第一种溶剂是非水溶剂。

32. 权利要求30的方法,其中所述第二种溶剂是非水溶剂。

33. 一种用于制备(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的方法,其包括权利要求30的步骤a-f和步骤g',其中步骤g'包括蒸发步骤f中的所述萃余液,从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

34. 与药学可接受的载体组合的权利要求1-3中任一项的多晶型物在治疗癌症中的用途。

35. 权利要求34的用途,其中所述癌症选自肺癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、慢性髓性白血病、黑素瘤、卵巢癌、肾癌、肝癌、脑癌和多发性骨髓瘤。

36. 与药学可接受的载体组合的权利要求12或13的手性纯化的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮在治疗癌症中的用途。

37. 权利要求36的用途,其中所述癌症选自肺癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、慢性髓性白血病、黑素瘤、卵巢癌、肾癌、肝癌、脑癌和多发性骨髓瘤。

纯化的吡咯并喹啉基 - 吡咯烷 -2,5- 二酮组合物和用于制备且使用其的方法

[0001] 本发明申请是 PCT 专利申请 PCT/US2010/061625, 申请日为 2010 年 12 月 21 日、发明名称为“纯化的吡咯并喹啉基 - 吡咯烷 -2,5- 二酮组合物和用于制备且使用其的方法”的发明专利申请的分案申请, 母案进入中国的申请号为 201080064457.9。

[0002] 与相关申请的交叉参考

本申请要求于 2009 年 12 月 23 日提交的美国临时申请号 61/289,563 的优先权和利益。该申请整体引入本文作为参考。

[0003] 发明背景

癌症是在美国的第二大死亡主因, 仅次于心脏病。*(Cancer Facts and Figures 2004, American Cancer Society, Inc.)*。尽管在癌症诊断和治疗中的近期进展, 如果癌症早期发现, 那么手术和放射性治疗可以是治愈性的, 但用于转移性疾病的目前药物治疗大多数是姑息性的且很少提供长期治愈。即使对于进入市场的新化学疗法, 仍继续需要在单一疗法中或与现有试剂组合中有效的新药物作为第一线疗法, 并且作为在抗性肿瘤的治疗中的第二线和第三线治疗。

[0004] 癌细胞通过定义是异质性的。例如, 在单一组织或细胞类型内, 多重突变‘机制’可以导致癌症的发展。像这样, 异质性频繁出现在取自己源于不同个体的相同组织和相同类型的肿瘤的癌细胞之间。与某些癌症相关的频繁观察到的突变‘机制’可以在一个组织类型和另一个之间不同(例如, 导致结肠癌的频繁观察到的突变‘机制’可以不同于导致白血病的频繁观察到的‘机制’)。因此通常难以预测特定癌症是否将响应特定化学治疗剂。*(Cancer Medicine, 第 5 版, Bast 等人编辑, B. C. Decker Inc., Hamilton, Ontario)*。

[0005] 调节正常细胞生长和分化的细胞信号转导途径的组分当失调时, 可以导致细胞增殖性病症和癌症的发展。细胞信号蛋白中的突变可以促使此类蛋白质以不合适水平或在细胞周期过程中的不合适时间变得表达或激活, 这又可以导致不受控制的细胞生长或细胞 - 细胞粘附性质中的变化。例如, 受体酪氨酸激酶通过突变、基因重排、基因扩增的失调以及受体和配体二者的超表达已牵涉人癌症的发展和进展。

[0006] c-Met 受体酪氨酸激酶是关于肝细胞生长因子 (HGF) 的唯一已知高亲和力受体, 也称为散射因子。HGF 与 c-Met 细胞外配体结合结构域的结合导致受体多聚化和在 c-Met 的细胞内部分中多个酪氨酸残基的磷酸化。c-Met 的激活导致衔接蛋白例如 Gab-1、Grb-2、Shc 和 c-Cbl 的结合和磷酸化, 以及信号转导物例如 PI3K、PLC- γ 、STATs、ERK1 和 2 和 FAK 的后续激活。c-Met 和 HGF 在众多组织中表达, 并且其表达通常主要分别局限于上皮和间充质起源的细胞。c-Met 和 HGF 在人癌症中是失调的, 并且可以促成细胞生长的失调、肿瘤细胞散布、和在疾病进展和转移过程中的肿瘤侵袭(参见例如, *Journal of Clinical Investigation* 109: 863-867(2002) 和 *Cancer Cell* 第 5-6 页 2004 年 7 月)。c-Met 和 HGF 在众多癌症中相对于外围组织是高度表达的, 并且其表达与预后不良和缺乏对标准临床治疗的应答关联。(参见例如, *Journal of Cellular Biochemistry* 86: 665-677(2002); *Int. J. Cancer (Pred. Oncol.)* 74: 301-309(1997); *Clinical Cancer Research* 9:

1480–1488 (2003) ; 和 *Cancer Research* 62: 589–596 (2002))。不希望受理论束缚, c-Met 和 HGF 可以保护肿瘤不受由 DNA 损害剂诱导的细胞死亡, 并且像这样可以促成肿瘤的化学抗性和抗放射性。不希望受任何理论束缚, c-Met 的抑制剂可以在增殖性病症包括乳腺癌的治疗中用作治疗剂。(参见例如, *Cancer and Metastasis Reviews* 22: 309–325 (2003))。相应地, 需要用于调节这些因素和治疗癌症的新化合物和方法。本发明解决了这些需要。

[0007] 发明概述

本发明提供了 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。在某些实施方案中, 多晶型物还可以特征在于使用 Cu K α 辐射在约 8.2、10.8、14.1、15.5、17.8、19.9 和 25.6 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。在其他实施方案中, 多晶型物还可以特征在于使用 Cu K α 辐射在约 8.2、10.8、14.1、14.9、15.5、17.1、17.8、19.4、19.9、21.1、21.9、23.0、25.6 和 28.4 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

[0008] 本发明还提供了 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。在某些实施方案中, 多晶型物还可以特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9、12.0、16.7、20.1 和 22.8 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。在其他实施方案中, 多晶型物还可以特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9、12.0、13.2、16.4、16.7、17.2、20.1、20.3、20.8、22.8、23.7、28.6 和 30.4 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

[0009] 本发明还提供了 (±)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷, 和包含 (±)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷的组合物。组合物可以包含超过 90%、超过 95% 或超过 99% (±)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮二氯甲烷。

[0010] 本发明还提供了 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 • (1S,2S)-(+) - 伪麻黄碱, 或包含 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 • (1S,2S)-(+) - 伪麻黄碱的组合物。组合物可以包含超过 90%、超过 95% 或超过 99% (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 • (1S,2S)-(+) - 伪麻黄碱。在某些实施方案中, 组合物可以包含小于 1%、小于 0.5% 或小于 0.1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮伪麻黄碱。

[0011] 本发明还提供了手性纯化的 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 其包含小于 1%、小于 0.7%、小于 0.5% 或小于 0.1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮。

[0012] 本发明还提供了用于制备 (–)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H 吡 咯 并 [3,2,1-*i,j*] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的方法, 其包括 : (a) 在第一种溶剂中混

合(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮与(1*S*,2*S*)-(+)伪麻黄碱,以形成固体(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S*,2*S*)-(+)伪麻黄碱;(b)用第一种溶剂的水性混合物洗涤在步骤(a)中形成的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S*,2*S*)-(+)伪麻黄碱固体;(c)使来自步骤(b)的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S*,2*S*)-(+)伪麻黄碱与酸在有机溶剂中反应,并且分离所得到的溶液的有机层;(d)洗涤来自步骤(c)的有机层;(e)将第二种溶剂加入有机层中;(f)将有机层浓缩直至溶液中第二种溶剂的量小于5%;和(g)从步骤(f)中的有机层结晶且在真空下干燥所得到的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮溶液,从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0013] 优选地,所产生的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮包含小于1%、小于0.7%、小于0.5%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0014] 第一种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、环己基乙胺、乙腈或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第二种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、乙腈或其混合物。在某些实施方案中,第二种溶剂与所述第一种溶剂相同。在其他实施方案中,第二种溶剂与所述第一种溶剂不同。步骤(c)中的有机溶剂可以是甲基四氢呋喃。在某些实施方案中,将有机层在步骤(d)中用盐溶液洗涤。优选地,盐溶液是氯化钠溶液。

[0015] 该方法可以进一步包括在步骤(g)后清洗(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮晶体。在某些实施方案中,将(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮晶体用醇清洗。优选地,醇选自乙醇和甲醇。

[0016] 本发明还提供了用于制备(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的方法,其包括(a)混合(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S*,2*S*)-(+)伪麻黄碱和酸;(b)将醇加入来自(a)的混合物,以形成浆;(c)加热且搅拌步骤(b)中形成的浆;(d)冷却且分离(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮;(e)用第一种溶剂洗涤步骤(d)中分离的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮;(f)使来自步骤(e)的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮溶解于第二种溶剂中,以形成溶液;(g)将第三种溶剂加入(f)中的溶液,并且蒸馏溶液直至所述第二种溶剂在溶液中的量小于5%;(h)从(g)中的溶液结晶(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮;(i)任选地,加入第四种溶剂(优

选水),以熟化来自(h)的晶体;(j)通过过滤分离来自(i)的晶体;(k)用第三种溶剂和第四种溶剂的混合物洗涤来自(j)的晶体;和(l)在真空下干燥来自(k)的晶体,从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0017] 优选地,所产生的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮包含小于1%、小于0.7%、小于0.5%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0018] 醇可以是甲醇、乙醇或其混合物。第一种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第二种非水溶剂是四氢呋喃。第三种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第三种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。

[0019] 本发明还提供了用于制备(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的方法,其包括:(a)使(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮溶解于二氯甲烷中,且分离(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮二氯甲烷;(b)使(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮二氯甲烷溶解于第一种溶剂中;(c)蒸馏步骤(b)的溶液直至溶液中的二氯甲烷水平按重量计<0.1%;(d)将步骤(c)的溶液在第二种溶剂中稀释;(e)将步骤(d)的溶液引入含有适合于手性分离的填料的多柱层析系统内;(f)合并得自步骤(e)中的系统的所得到的萃余液(raffinate);和(g)结晶来自步骤(f)的萃余液,且过滤所得到的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,或将来自步骤(f)的萃余液蒸发至干燥,从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0020] 优选地,所产生的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮包含小于1%、小于0.7%、小于0.5%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0021] 优选地,第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地,第二种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、乙腈或其混合物。更优选地,第二种非水溶剂是甲醇和乙腈的混合物。

[0022] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与由本发明所属领域普通技术人员通常理解相同的含义。在说明书中,单数形式还包括复数,除非上下文另有明确说明。下文描述了合适方法和材料,但与本文描述的那些相似或相等的方法和材料可以用于本发明的实践或测试中。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献引入本文作为参考。本文引用的参考文献并非承认是本发明的现有技术。在冲突的情况下,以本说明书包括定义为准。此外,材料、方法和实施例仅是举例说明性的并且不预期是限制性的。

[0023] 本发明的其他特点和优点根据下述详述说明书和权利要求将是显而易见的。

[0024] 附图简述

图 1 阐述 (±)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮和 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的化学结构。

[0025] 图 2 阐述 (±)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在体外对 MDA-MB-231 或 Paca-2 细胞存活的作用。

[0026] 图 3 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在体外对 MDA-MB-231 细胞存活的作用。

[0027] 图 4 阐述 (±)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在体外对蛋白质激酶 C 活性的作用。

[0028] 图 5, 小图 A 阐述通过 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮抑制 c-Met 的自磷酸化; 小图 B 阐述通过 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮抑制诱导的 c-Met 磷酸化。

[0029] 图 6 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在癌细胞中诱导凋亡的作用。

[0030] 图 7 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮抑制转移性癌细胞侵入的作用。

[0031] 图 8 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮对乳腺癌异种移植物模型的作用。

[0032] 图 9 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮对人结肠癌异种移植物模型(小图 A)、人胰腺癌异种移植物模型(小图 B)、人前列腺癌异种移植物模型(小图 C)、和人胃癌异种移植物模型(小图 D)的作用。

[0033] 图 10 阐述多重细胞系对 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的细胞毒性敏感性。

[0034] 图 11 阐述在通过免疫组织化学(小图 A)或蛋白质印迹(小图 B)用 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮处理的组织病理学样品中磷酸化 c-Met 的量中的减少。

[0035] 图 12, 小图 A 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 1 型多晶型物的 XRPD 图; 小图 B 阐述 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 1 型多晶型物的 XRPD 图的典型 2θ 值。

[0036] 图 13, 小图 A 阐述 (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 2 型 多 晶 型 物 的 XRPD 图 ; 小图 B 阐述 (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 2 型 多 晶 型 物 的 XRPD 图 的 典 型 2θ 值。

[0037] 图 14 阐述 比 较 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 1 和 2 型 多 晶 型 物 的 XRPD 图 的 曲 线 图。

[0038] 图 15 小图 A 和 B 阐述 显示 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 1 和 2 型 的 IR 谱 的 曲 线 图。

[0039] 图 16 阐述 显 示 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 1 和 2 型 的 热 (熔解) 行为的 曲 线 图。

[0040] 图 17, 小图 A 和 B 阐述 显示 分别 描述 为 B 和 A 型 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘴 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 1 和 2 型 的 溶 解 度 和 固 有 溶 解 的 曲 线 图。

[0041] 发明详述

吡 咯 并 噻 嘘 基 - 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 化 合 物

本发明提供了具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的 手 性 纯 度 , 且 含 有 小 于 1% (+)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 。

[0042] 本发明还提供了 组 合 物 , 其 包 含 : 具 有 如 通 过 HPLC 测 定 的 超 过 99% 的 手 性 纯 度 、 且 含 有 小 于 1% (+)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 。 该 组 合 物 可 以 包 含 一 种 或 多 种 药 学 可 接 受 的 载 体 或 赋 形 剂 。

[0043] 优 选 地 , 通 过 本 发 明 提 供 的 高 度 纯 化 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 具 有 超 过 99.3% 、 超 过 99.5% 、 超 过 99.6% 、 超 过 99.7% 、 超 过 99.8% 或 超 过 99.9% 的 手 性 纯 度 。 优 选 地 , 含 有 通 过 本 发 明 提 供 的 高 度 纯 化 的 (-)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 的 组 合 物 含 有 小 于 0.7% 、 小 于 0.5% 、 小 于 0.4% 、 小 于 0.3% 、 小 于 0.2% 或 小 于 0.1% (+)- 反 式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡 咯 并 [3,2,1-i j] 噻 嘘 -1- 基)-4-(1H- 呋 咪 -3- 基) 吡 咯 烷 -2,5- 二 酮 。

[0044] 考 虑 了 本 发 明 的 化 合 物 的 所 有 形 式 , 在 混 合 物 中 或 以 纯 或 基 本 上 纯 的 形 式 , 包 括 结 晶 形 式 的 外 消 旋 混 合 物 和 结 晶 形 式 的 个 别 异 构 体 。 本 发 明 非 常 特 别 地 包 含 具 有 指 定 活 性 的 分 离 的 光 学 异 构 体 。 外 消 旋 形 式 可 以 通 过 物 理 方 法 进 行 拆 分 , 例 如 非 对 映 体 衍 生 物 的 分 离 或 结 晶 , 通 过 手 性 柱 层 析 或 超 临 界 液 体 层 析 的 分 离 。 个 别 光 学 异 构 体 可 以 通 过 常 规 方 法 得 自 外 消 旋 物 , 例 如 用 光 学 活 性 的 酸 或 碱 的 盐 形 成 随 后 进 行 结 晶 。

[0045] 本 发 明 的 特 定 化 合 物 可 以 以 互 变 异 构 形 式 存 在 。 化 合 物 的 所 有 此 类 互 变 异 构 形 式 考 虑 在 本 发 明 的 范 围 内 , 除 非 另 有 说 明 。

[0046] 此外,晶体多晶型现象可以存在但不是限制性的,但任何晶型可以是单一的或晶型混合物,或无水或水合晶型。

[0047] 术语“晶体多晶型现象 (crystal polymorphs)”或“多晶型物 (polymorphs)”或“晶型 (crystal forms)”意指晶体结构,其中化合物(或其盐或溶剂化物)可以以不同晶体填充排列结晶,所有这些具有相同元素组成。不同晶型通常具有不同X射线衍射图、红外光谱、熔点、密度、晶体形状、光学和电性质、稳定性和溶解度。结晶溶剂、结晶速率、贮存温度和其他因素可以促使一种晶型占优势。化合物的晶体多晶型物可以通过在不同条件下结晶进行制备。

[0048] 本发明提供了(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的两种多晶型物。

[0049] (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。在某些实施方案中,多晶型物还可以特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8、14.1、15.5、17.8、19.9和25.6°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。在其他实施方案中,多晶型物还可以特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8、14.1、14.9、15.5、17.1、17.8、19.4、19.9、21.1、21.9、23.0、25.6和28.4°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。

[0050] 本发明还提供了(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。在某些实施方案中,多晶型物还可以特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9、12.0、16.7、20.1和22.8°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。在其他实施方案中,多晶型物还可以特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9、12.0、13.2、16.4、16.7、17.2、20.1、20.3、20.8、22.8、23.7、28.6和30.4°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。

[0051] 本发明还提供了包含(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物的组合物,1型多晶型物特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。该组合物可以包含一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0052] 本发明还提供了包含(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物的组合物,2型多晶型物特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图。该组合物可以包含一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0053] 另外,本发明的化合物例如化合物的盐可以以水合或未水合(无水)形式或作为具有其他溶剂分子的溶剂化物存在。水合物的非限制性例子包括一水合物、二水合物等。溶剂化物的非限制性例子包括乙醇溶剂化物、丙酮溶剂化物等。

[0054] 本发明还提供了(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S,2S*)-(+)伪麻黄碱。(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮•(1*S,2S*)-(+)伪麻黄碱可以包含小于1%(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡

咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮伪麻黄碱。

[0055] 本发明还提供了组合物，其包含具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度、且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮伪麻黄碱的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮• (1S, 2S)-(+)- 伪麻黄碱。该组合物可以包含一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0056] 优选地，通过本发明提供的高度纯化的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮• (1S, 2S)-(+)- 伪麻黄碱具有超过 99.5%、超过 99.6%、超过 99.7%、超过 99.8% 或超过 99.9% 的非对映体纯度。优选地，含有通过本发明提供的高度纯化的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮• (1S, 2S)-(+)- 伪麻黄碱的组合物含有小于 0.5%、小于 0.4%、小于 0.3%、小于 0.2% 或小于 0.1% (+)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮伪麻黄碱。

[0057] “溶剂化物”意指含有溶剂的化学计量或非化学计量的溶剂添加形式。某些化合物具有以结晶固态捕获固定摩尔比的溶剂分子的趋势，从而形成溶剂化物。如果溶剂是水，那么形成的溶剂化物是水合物，当溶剂是醇时，形成的溶剂化物是醇化物。水合物通过一个或多个水分子与物质之一的组合形成，其中水保留其作为 H₂O 的分子状态，此类组合能够形成一种或多种水合物。例如，溶剂化物可以是二氯甲烷 (DCM) 溶剂化物。

[0058] 本发明还提供了 (±)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮二氯甲烷，和包含 (±)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮二氯甲烷的组合物。该组合物可以包含超过 90%、超过 95% 或超过 99% (±)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮二氯甲烷。该组合物可以包含一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0059] 本发明的某些化合物可以以互变异构形式存在，其也预期包含在本发明的范围内。“互变异构体”指其结构在原子排列中显著不同，但以容易和快速平衡状态存在的化合物。应当理解本发明的化合物可以描述为不同互变异构体。还应当理解当化合物具有互变异构形式时，所有互变异构形式都预期在本发明的范围内，并且化合物的命名不排除任何互变异构形式。

[0060] 本发明的化合物、盐和前体药物可以以几种互变异构形式存在，并且此类互变异构形式包含在本发明的范围内。互变异构体作为在溶液中的互变异构组的混合物存在。在固体形式中，通常一种互变异构体占优势。即使可以描述一种互变异构体，但本发明包括本发明化合物的所有互变异构体。

[0061] 如本文使用的，术语“盐”是药学可接受的盐，并且可以包括酸加成盐，包括盐酸盐、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、烷基磺酸盐、芳基磺酸盐、乙酸盐、苯甲酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、延胡索酸盐、琥珀酸盐、乳酸盐和酒石酸盐；碱金属阳离子例如 Na⁺、K⁺、Li⁺，碱土金属盐例如 Mg²⁺ 或 Ca²⁺，或有机胺盐。

[0062] 如本文使用的，术语“代谢产物”意指本发明的化合物或其药学可接受的盐、多晶型物或溶剂化物代谢的产物，其显示出与本发明的所述化合物相似的体内活性。

[0063] 如本文使用的，术语“混合”意指合并、掺和、搅拌、振荡、旋涡或搅动。术语“搅拌”意指混合、振荡、搅动或旋涡。术语“搅动”意指混合、振荡、搅拌或旋涡。

[0064] 本发明的化合物还可以制备为前体药物，例如药学可接受的前体药物。术语“药物前体”和“前体药物”在本文中可互换使用，并且指在体内释放活性母体药物的任何化合物。因为前体药物已知增强药剂的众多所需品质（例如溶解度、生物利用度、制造等），所以本发明的化合物可以以前体药物形式递送。因此，本发明预期覆盖目前请求保护的化合物的前体药物，递送其的方法和包含其的组合物。术语“前体药物”包括与一种或多种前部分（pro-moieties），例如氨基酸部分或其他水增溶部分共价连接的本发明的化合物。本发明的化合物可以经由水解、氧化和/或酶促释放机制从前部分中释放。在一个实施方案中，本发明的前体药物组合物显示出增加的水溶解度、改善的稳定性、和改善的药物代谢动力学概况的额外利益。前部分可以选择为获得所需前体药物特征。例如，前部分例如氨基酸部分或其他水增溶部分例如磷酸盐可以基于溶解度、稳定性、生物利用度和/或体内递送或摄取进行选择。术语“前体药物”还预期包括任何共价键合的载体，当此类前体药物施用于受试者时，其在体内释放本发明的活性母体药物。本发明中的前体药物通过以这样的方式修饰化合物中存在的官能团进行制备，从而使得修饰以常规操作或在体内切割为母体化合物。前体药物包括本发明的化合物，其中羟基、氨基、巯基、羧基或羰基与任何基团键合，所述任何基团可以在体内切割，以分别形成游离羟基、游离氨基、游离巯基、游离羧基或游离羰基。

[0065] 前体药物的例子包括但不限于式 I 的化合物中的羟基官能团的酯（例如乙酸酯、二烷基氨基乙酸酯、甲酸酯、磷酸酯、硫酸酯和苯甲酸酯衍生物）和氨基甲酸酯（例如 N,N-二甲氨基羰基），羰基官能团的酯基团（例如乙酯、吗啉乙醇酯），氨基官能团的 N-酰基衍生物（例如 N-乙酰基）N-Mannich 碱、希夫碱和烯胺酮，酮和醛官能团的肟、缩醛、缩酮和烯醇酯等，参见 Bundgaard, H. "Design of Prodrugs" 第 1-92 页, Elsevier, New York-Oxford(1985)。

[0066] (-) - 反式 -3-(5,6-二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 呋 哌 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮化合物的合成

用于制备有机分子和官能团转化和操作的标准合成方法和程序，包括保护基团的使用，可以得自有关科学文献或本领域中的标准参考教科书。尽管并不限于任何一个或多个来源，但有机合成的公认参考教科书包括：Smith, M. B. ;March, J. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第 5 版. ;John Wiley & Sons: New York, 2001 ; 和 Greene, T. W. ;Wuts, P. G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd; John Wiley & Sons: New York, 1999。合成方法的下述描述设计为举例说明而不是限制用于制备本发明的化合物的一般程序。

[0067] 本发明还提供了用于制备 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 呋 哌 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的方法，其包括：(a) 在第一种溶剂中混合 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 呋 哌 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮与 (1S,2S)-(+) - 伪麻黄碱，以形成固体 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 呋 哌 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1S,2S)-(+) - 伪麻黄碱；(b) 用第一种溶剂的水性混合物洗涤在步骤 (a) 中形成的 (-)- 反式 -3-(5,6-

氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮•(1S,2S)-(+)-伪麻黄碱固体；(c) 使来自步骤(b)的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮•(1S,2S)-(+)-伪麻黄碱与酸在有机溶剂中反应，并且分离所得到的溶液的有机层；(d) 洗涤来自步骤(c)的有机层；(e) 将第二种溶剂加入有机层中；(f) 将有机层浓缩直至溶液中第二种溶剂的量小于5%；和(g) 从步骤(f)中的有机层结晶且在真空下干燥所得到的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮，从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮。优选地，所产生的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮含有小于1%、小于0.7%、小于0.5%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮。

[0068] 第一种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、乙腈或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第二种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、乙腈或其混合物。在某些实施方案中，第二种溶剂与所述第一种溶剂相同。在其他实施方案中，第二种溶剂与所述第一种溶剂不同。步骤(c)中的有机溶剂可以是甲基四氢呋喃。在某些实施方案中，将有机层用步骤(d)中的盐溶液洗涤。优选地，盐溶液是氯化钠溶液。

[0069] 该方法可以进一步包括在步骤(g)后清洗(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮晶体。在某些实施方案中，将(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮晶体用醇清洗。优选地，选用自己醇和甲醇。

[0070] 本发明还提供了用于制备(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的方法，其包括(a) 混合(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮•(1S,2S)-(+)-伪麻黄碱和酸；(b) 将醇加入来自(a)的混合物，以形成浆；(c) 加热且搅拌步骤(b)中形成的浆；(d) 冷却且分离(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮；(e) 用第一种溶剂洗涤步骤(d)中分离的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮；(f) 使来自步骤(e)的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮溶解于第二种溶剂中，以形成溶液；(g) 将第三种溶剂加入(f)中的溶液，并且蒸馏溶液直至所述第二种溶剂在溶液中的量小于5%；(h) 从(g)中的溶液结晶(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮；(i) 任选地，加入第四种溶剂(优选水)，以熟化来自(h)的晶体；(j) 通过过滤分离来自(i)的晶体；(k) 用第三种溶剂和第四种溶剂的混合物洗涤来自(j)的晶体；和(l) 在真空下干燥来自(k)的晶体，从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-i,j] 噻吩-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮。

[0071] 醇可以是甲醇、乙醇或其混合物。第一种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第二种非水溶

剂是四氢呋喃。第三种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第三种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。第四种溶剂可以是水性溶剂。优选地，第四种溶剂是水。

[0072] 本发明还提供了用于制备(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的方法，其包括：(a)使(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮溶解于二氯甲烷中，且分离(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮二氯甲烷；(b)使(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮二氯甲烷溶解于第一种溶剂中；(c)蒸馏步骤(b)的溶液直至溶液中的二氯甲烷水平按重量计<0.1%；(d)将步骤(c)的溶液在第二种溶剂中稀释；(e)将步骤(d)的溶液引入含有适合于手性分离的填料的多柱层析系统内；(f)合并得自步骤(e)中的系统的所得到的萃余液；和(g)结晶来自步骤(f)的萃余液，且过滤所得到的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮，或将来自步骤(f)的萃余液蒸发至干燥，从而产生(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。优选地，所产生的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮包含小于1%、小于0.7%、小于0.5%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0073] 优选地，第一种非水溶剂可以是甲醇、乙醇或其混合物。第二种溶剂可以是非水溶剂。优选地，第二种非水溶剂可以是甲醇、乙醇、乙腈或其混合物。更优选地，第二种非水溶剂是甲醇和乙腈的混合物。

[0074] 方案I提供了用于产生本组合物的概括，所述组合物包含高度纯化(>99%手性纯度)的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮，其中存在最低限度量(<1%)的不希望有的对映体，(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。优选地，该组合物包含(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮，其具有超过99.3%、超过99.5%、超过99.6%、超过99.7%、超过99.8%或超过99.9%的手性纯度。优选地，该组合物包含小于0.7%、小于0.5%、小于0.4%、小于0.3%、小于0.2%或小于0.1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮。

[0075] 如方案I中所示和下述实施例中详细描述的，多个程序用于产生且分离包含高度手性纯的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的这些组合物，包括但不限于多柱层析拆分、非对映体盐拆分或动态动力学拆分。

[0076] 在方案I的步骤1中，将四氢吡咯并[1,2,3-i,j]四氢喹啉(化合物4)用草酰氯处理，以给出酰基氯的甲基叔丁基醚(MTBE)反应溶剂溶液。甲醇的添加足以提供中间体酮酯，5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j]喹啉-1-基)氧代乙酸甲酯(化合物5)。在反应的步骤2中，将化合物5和吲哚-3-乙酰胺(化合物5a)合并，以产生3-(5,6-二氢-4H-吡

咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯 -2, 5- 二酮 (化合物 6) 。如下述实施例中详细描述的, 不需要分离中间体化合物 5 来产生化合物 6 。从 MTBE 到四氢呋喃 (THF) 的溶剂交换是进行步骤 2 前必需的, 因为 5 和 5a 都具有在 MTBE 中的极弱溶解度。在碱的存在下加入化合物 5a 以消耗溶于 THF 中的化合物 5 后, 加入 HCl 以完成反应, 以提供粗化合物 6 。随后从 DCM 和庚烷中纯化粗化合物 6 , 以提供足够纯度的化合物 6 , 以进行至下一个步骤。这个过程的详细描述显示于实施例 1 中。

[0077] 将化合物 6 用氢氧化钯、 THF 和叔丁醇钾氢化, 以产生粗反式外消旋物, (±)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 (化合物 8) 。如实施例中描述的, 化合物 8 的制备不需要分离粗顺式外消旋物 (±)- 顺式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 (化合物 7) 。相反, 在化合物 6 的氢化过程中, 修改条件以实现所得到的化合物 7 的原位异构化。所得到的过程提供控制化合物 8 中的关键杂质、尤其是化合物 6 的手段。具体地, 该反应在 THF 溶剂中执行, 并且采用的催化剂是氢氧化钯。还将叔丁醇钾加入反应混合物中, 以促进异构化。这个过程的详细描述显示于实施例 2 中。

[0078] 化合物 8 中的最常见杂质一般是化合物 7 。因为化合物 7 自身是手性的, 所以当利用较低纯度 (< 99%) 的化合物 8 时, 特别难以预测化合物 7 的异构体从多柱层析 (MCC) 中的洗脱。为了确保高纯度产物, 因此, 在通过 MCC 的对映体拆分前必需增加外消旋物化合物 8 的纯度。确定化合物 8 的纯度可以过来自多种溶剂的溶剂化物的选择性结晶得到改善。由二氯甲烷 (DCM) 形成的一种此类溶剂化物获得具有极高化学纯度 (> 99%) 的化合物 8 DCM 。如方案 I 中所示, 通过将粗化合物 8 溶解于 DCM 中, 且随后用 DCM 晶体播种, 形成化合物 8 DCM 。在种子床生长至临界质量后, 加入庚烷以驱动结晶完成。在通过过滤分离和在真空下去除总体残留溶剂后, 化合物 8 DCM 一般含有就化合物 8 而言的 0.8-0.9 摩尔 DCM 。这种溶剂化物结晶去除由于氢化和异构化在粗 (95-98%) 化合物 8 中存在的工艺杂质。这个过程的详细描述显示于实施例 3 中。

[0079] 本发明提供了化合物 8 DCM 的两种对映体通过 MCC 的手性拆分, 如方案 I 中所示。MCC 对映体分离过程提供了超过通过 HPLC 分批层析的分离的优点, 因为它可以提供在比分批制备更大规模上 (> 20 kg) 的高手性纯度 (> 99 %) 。MCC 拆分可以在甲醇、甲醇和乙醇 (1:1 体积) 或甲醇和乙腈 (9:1 v/v) 的混合物中进行。手性固定相 (CSP) 利用购自 Chiral Technologies, Inc 的 Chiraldapak AD 或 AZ 。外消旋物进料溶液的浓度在 20-50 g/L 的范围内。优选地, 用于分离的指定手性纯度是 > 99% 的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 (化合物 10) , 且含有 < 1% 的 (+)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮 (化合物 9) 。

[0080] 具体地, 分离通过在所选流动相中制备外消旋化合物 8 的进料溶液来进行。这种溶液通过最初将材料溶解于甲醇中由化合物 8 DCM 制备。层析参数在生产前进行评估, 并且在进料溶液分离的最初数小时或数天过程中进行最后优化。当收集的最初馏分不符合手性纯度规格时, 将材料再循环到进料溶液内, 以重复拆分。一旦已建立符合规格的操作参数, 就应用条件以分离整个进料溶液体积。在整个操作中, 收集作为萃余液流的化合物 10 , 合并且浓缩。随后将浓缩的萃余液浓缩至干燥 (< 5 kg 规模), 或浓缩且播种以诱导化合物 10

的结晶 (> 5 kg 规模)。这个过程的详细描述显示于实施例 4 中。

[0081] 除 MCC 拆分外,已采用通过非对映体盐的形式拆分手性酸或碱的经典方法。在化合物 10 的情况下,可以使用酸或碱,因为该分子是两性的。在手性碱的详细筛选后,显示由化合物 8 的对映体与伪麻黄碱形成的盐在某些溶剂中具有广泛不同的溶解度概况。将该关联最佳化以允许使用 (1*S*,2*S*)-(+) - 伪麻黄碱拆分化合物 8,以选择性提供 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮• (1*S*,2*S*)-(+) - 伪麻黄碱 (化合物 10 • (1*S*,2*S*)-(+) - 伪麻黄碱)。这个过程的详细描述显示于实施例 6 中。本发明提供的另一个过程是使用动态动力学拆分 (DKR) 原位外消旋化不希望有的对映体, (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 (化合物 9)。这个过程的详细描述显示于实施例 7 中。

[0082] 在 MCC 拆分和经典非对映体盐拆分过程中,分离不希望有的对映体,化合物 9。这种不希望有的对映体可以异构化,以获得外消旋化合物 8。这通过实现用于异构化顺式异构体化合物 7 的相同程序来完成,以提供粗反式外消旋物化合物 8。异构化在甲醇或乙醇中进行,使用氢氧化钠作为碱。这个过程的详细描述显示于实施例 5 中。

[0083] 方案 I 中所述的合成方法在大规模上可容易再现,例如 10 kg、20 kg、30 kg、40 kg、50 kg 和 60 kg 及更高的规模,提供 > 45 %(-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 (化合物 10) 的总收率,其基于吲哚乙酰胺作为限制反应物。优选地,1 kg 四氢吡咯并 [1,2,3-*i,j*] 四氢喹啉 (化合物 4) 获得具有 > 99% 纯度的约 1 kg (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 (化合物 10)。

[0084] 本发明还提供了制备 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的多晶型物的方法。通过将所得到的混合物加热至 50°C,将粗化合物 10 溶解于溶剂例如 THF 中。将所得到的混合物精密过滤 (polish filtered),随后加入第二种溶剂例如甲醇和化合物 10 的 1 型晶种。

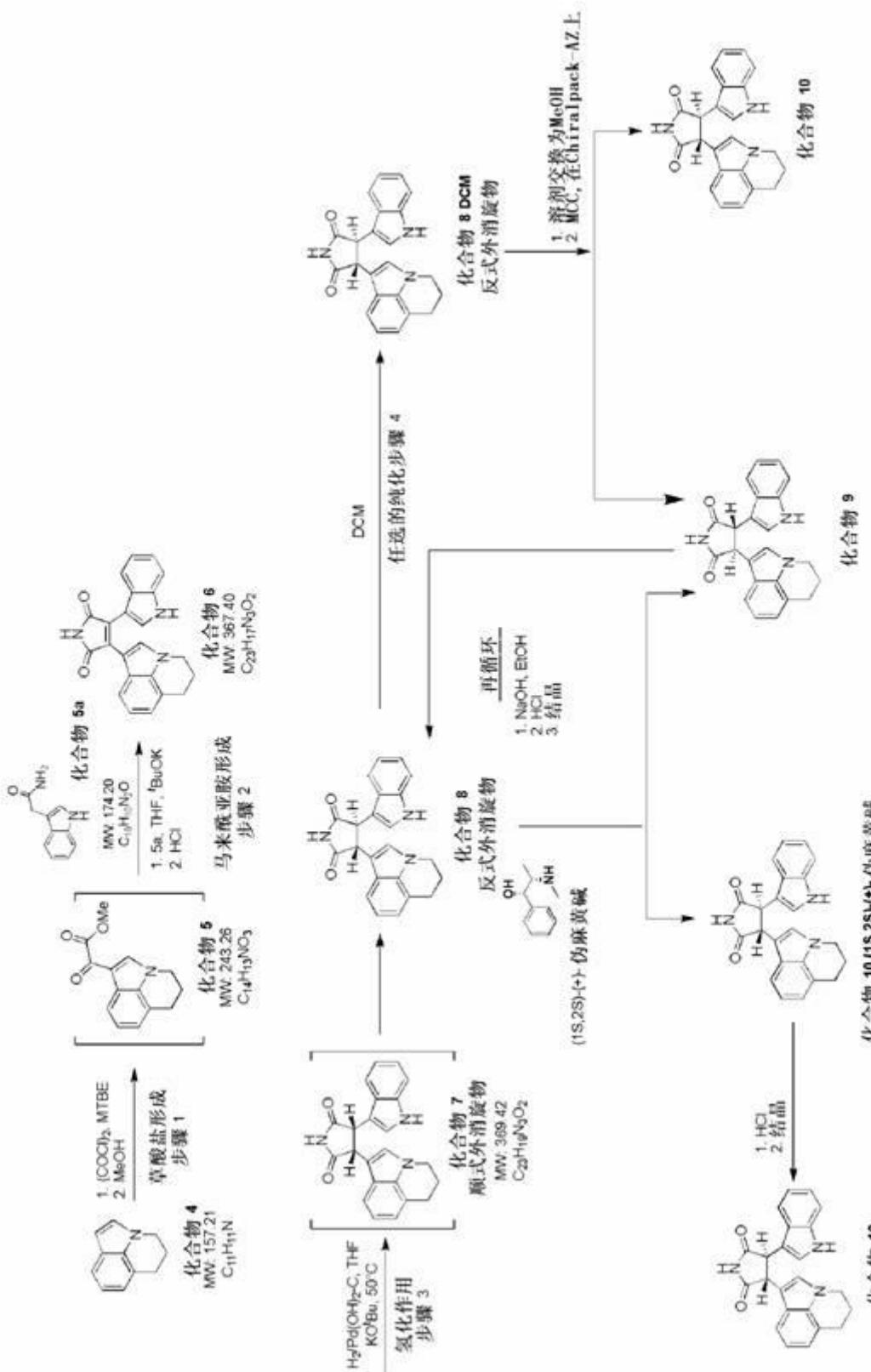
[0085] 晶种的使用赋予结晶过程的多晶型控制。在不存在播种的情况下,1 型或 2 型可以以高纯度自发结晶。因此,为了提供 1 型或 2 型种子,允许自发结晶;并且一旦形成,结晶产物就可以使用定量分析通过 x 射线粉末衍射进行表征,以测定所得到的晶型及其多晶型纯度。在此类表征后,这种结晶产物可以用作“晶种”或“种子”,以控制在如本文描述的后续结晶过程中生成的 1 型或 2 型多晶型物。

[0086] 随后将溶液通过蒸馏共沸和常压浓缩,以减少溶剂例如 THF 的体积。将溶液的温度减少至 50°C 且搅拌至少 4 小时。取出等分试样以证实所需多晶型物的形成。如果需要的话,可以将多晶型物再溶解于 THF (30% 分批体积) 中,精密过滤,浓缩且播种,以获得所需多晶型结果。当获得所需多晶型形式时,在 50°C 加入 50% 水性甲醇的溶液,并且将溶液搅动另外 2-3 小时。随后将溶液冷却至环境温度且保持至少 2 小时,以允许结晶。在完成后,将晶体通过过滤分离,用另外 50% 水性甲醇洗涤,且在真空下在 65°C 干燥至少 12 小时。分离作为棕红色固体的化合物 10 的 1 型多晶型物。

[0087] 如果将 1 型晶种替换为 2 型晶种,那么 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基)-4-(1H 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物也可以

用上述方法进行制备。

律师案卷号: 22596-561001W0



方案 I

[0088] 治疗方法

本发明提供了通过给需要此类治疗的受试者施用治疗有效量的药物组合物治疗有此需要的受试者中的细胞增殖性病症的方法，所述组合物包含 (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-ij]

喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,和药学可接受的载体;(b)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂;或(c)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0089] 细胞增殖性病症可以是癌症或癌前状况。本发明进一步提供了下述的组合物用于制备对于治疗细胞增殖性病症有用的药剂的用途:(a)具有如通过HPLC测定的超过99%的手性纯度且含有小于1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,和药学可接受的载体;(b)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂;或(c)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0090] 本发明还提供了通过给需要此类治疗的受试者施用治疗有效量的药物组合物针对有此需要的受试者中的细胞增殖性病症进行保护的方法,所述药物组合物包含(a)具有如通过HPLC测定的超过99%的手性纯度且含有小于1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,和药学可接受的载体;(b)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂;或(c)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。细胞增殖性病症可以是癌症或癌前状况。本发明还提供了下述的化合物用于制备对于保护不受细胞增殖性病症有用的药剂的用途:(a)具有如通过HPLC测定的超过99%的手性纯度且含有小于1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,和药学可接受的载体;(b)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂;或(c)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[3, 2, 1-*iJ*] 噻啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2, 5-二酮的2型多晶型物, 其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0091] 如本文使用的, “有此需要的受试者”是具有细胞增殖性病症的受试者, 或相对于大多数群体具有发展细胞增殖性病症的增加危险的受试者。有此需要的受试者可以具有癌前状况。优选地, 有此需要的受试者具有癌症。“受试者”包括哺乳动物。哺乳动物可以是例如任何哺乳动物, 例如人、灵长类动物、鸟、小鼠、大鼠、家禽、犬、猫、牛、马、山羊、骆驼、绵羊或猪。优选地, 哺乳动物是人。

[0092] 如本文使用的, 术语“细胞增殖性病症”指其中细胞的未调节或异常生长或两者可以导致不需要的状况或疾病发展的状况, 其可以是或不是癌性的。本发明的示例性细胞增殖性病症包含其中细胞分裂失调的多种状况。示例性细胞增殖性病症包括但不限于瘤、良性肿瘤、恶性肿瘤、癌前状况、原位肿瘤、有包膜的肿瘤、转移性肿瘤、液体肿瘤、实体瘤、免疫学肿瘤、血液学肿瘤、癌症、瘤、白血病、淋巴瘤、肉瘤和快速分裂细胞。如本文使用的, 术语“快速分裂细胞”定义为以超过或大于在相同组织内的邻近或并列细胞中预期或观察到的速率分裂的任何细胞。细胞增殖性病症包括初癌或癌前状况。细胞增殖性病症包括癌症。优选地, 本文提供的方法用于治疗或减轻癌症症状。术语“癌症”包括实体瘤以及血液学肿瘤和 / 或恶性肿瘤。“初癌细胞”或“癌前细胞”是表现其为初癌或癌前状况的细胞增殖性病症的细胞。“癌细胞”或“癌性细胞”是表现为癌症的细胞增殖性病症的细胞。任何可重现的测量手段可以用于鉴定癌细胞或癌前细胞。癌细胞或癌前细胞可以通过组织样品(例如活组织检查样品)的组织学分型或分级进行鉴定。癌细胞或癌前细胞可以通过使用合适的分子标记进行鉴定。

[0093] 示例性非癌性状况或病症包括但不限于类风湿性关节炎;炎症;自身免疫疾病;淋巴组织增生状况;肢端肥大症;类风湿性脊柱炎;骨关节炎;痛风、其他关节状况;脓毒症;脓毒性休克;内毒素性休克;革兰氏阴性脓毒症;中毒性休克综合征;哮喘;成人呼吸窘迫综合征;慢性阻塞性肺疾病;慢性肺炎症;炎性肠病;克罗恩病;银屑病;湿疹;溃疡性结肠炎;胰腺纤维化;肝纤维化;急性和慢性肾脏疾病;肠易激综合征;胃灼热(pyresis);再狭窄;脑型疟疾;中风和缺血性损伤;神经创伤;阿尔茨海默氏病;亨廷顿氏病;帕金森氏病;急性和慢性疼痛;变应性鼻炎;变应性结膜炎;慢性心力衰竭;急性冠脉综合征;恶病质;疟疾;麻风病;利什曼病;莱姆病;莱特尔综合征;急性滑膜炎;肌肉变性、滑囊炎;肌腱炎;腱鞘炎;脱垂、破裂或脱出的椎间盘综合征;骨硬化症;血栓形成;再狭窄;矽肺;肺肉瘤病;骨再吸收疾病例如骨质疏松症;移植植物抗宿主反应;多发性硬化;狼疮;纤维肌痛;AIDS 及其他病毒性疾病例如带状疱疹、单纯疱疹 I 或 II、流感病毒和巨细胞病毒;和糖尿病。

[0094] 示例性癌症包括但不限于肾上腺皮质癌、AIDS 相关癌症、AIDS 相关淋巴瘤、肛门癌、肛门直肠癌、肛管癌症、盲肠癌、儿童期小脑星形细胞瘤、儿童期脑星形细胞瘤、基底细胞癌、皮肤癌(非黑素瘤)、胆道癌、肝外胆管癌、肝内胆管癌、膀胱癌、膀胱癌症、骨和关节癌、骨肉瘤和恶性纤维组织细胞瘤、脑癌、脑瘤、脑干神经胶质瘤、小脑星形细胞瘤、脑星形细胞瘤 / 恶性神经胶质瘤、室管膜瘤、成髓细胞瘤、幕上原始神经外胚层瘤、视通路和下丘脑神经胶质瘤、乳腺癌、支气管腺瘤 / 类癌、类癌瘤、胃肠道、神经系统癌症、神经系统淋巴瘤、中枢神经系统癌症、中枢神经系统淋巴瘤、宫颈癌、儿童期癌症、慢性淋巴细胞白血病、

慢性髓性白血病、慢性骨髓增殖性病症、结肠癌、结肠直肠癌、皮肤 T 细胞淋巴瘤、淋巴样瘤、蕈样真菌病、Sezary 综合征、子宫内膜癌、食管癌、额外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼癌、眼内黑素瘤、成视网膜细胞瘤、胆囊癌、胃的（胃）癌、胃肠道类癌瘤、胃肠道间质瘤 (GIST)、生殖细胞肿瘤、卵巢生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、神经胶质瘤、头与颈癌、肝细胞（肝）癌、何杰金淋巴瘤、下咽癌、眼内黑素瘤、眼的癌、胰岛细胞肿瘤（内分泌胰腺）、卡波济肉瘤、肾癌、肾癌症、肾癌、喉癌、急性成淋巴细胞白血病、急性髓样白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性白血病、多毛细胞白血病、唇和口腔癌、肝癌、肺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、AIDS 相关淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、Waldenström 巨球蛋白血症、成髓细胞瘤、黑素瘤、眼内（眼）黑素瘤、merkel 细胞癌、恶性间皮瘤、间皮瘤、转移性鳞状颈癌、口癌、舌癌症、多发性内分泌肿瘤综合征、蕈样真菌病、骨髓增生异常综合征、骨髓发育不良 / 骨髓增生性疾病、慢性髓性白血病、急性髓样白血病、多发性骨髓瘤、慢性骨髓增生性病症、鼻咽癌、成神经细胞瘤、口癌、口腔癌、口咽癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、卵巢低度潜在恶性肿瘤、胰腺癌、胰岛细胞胰腺癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状腺旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、成松果体细胞瘤和幕上原始神经外胚层瘤、垂体瘤、浆细胞瘤 / 多发性骨髓瘤、胸膜肺母细胞瘤、前列腺癌、直肠癌、肾盂和输尿管移行细胞癌、成视网膜细胞瘤、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、尤因家族肉瘤肿瘤、卡波济肉瘤、软组织肉瘤、子宫癌、子宫肉瘤、皮肤癌（非黑素瘤）、皮肤癌（黑素瘤）、merkel 细胞皮肤癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、胃（胃的）癌、幕上原始神经外胚层瘤、睾丸癌、咽喉癌、胸腺瘤、胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、肾盂和输尿管及其他泌尿器官的移行细胞癌、妊娠滋养细胞肿瘤、尿道癌症、子宫内膜子宫癌、子宫肉瘤、子宫体癌、阴道癌、外阴癌和 Wilm's 肿瘤。

[0095] “血液学系统的细胞增殖性病症”是涉及血液学系统的细胞的细胞增殖性病症。血液学系统的细胞增殖性病症可以包括淋巴瘤、白血病、髓样瘤、肥大细胞瘤、脊髓发育不良、良性单克隆丙种球蛋白病、淋巴瘤样肉芽肿病、淋巴瘤样丘疹病、真性红细胞增多症、慢性髓细胞白血病、原因不明性髓样化生和原发性血小板增多症。血液学系统的细胞增殖性病症可以包括血液学系统的细胞的增生、发育不良和化生。优选地，本发明的组合物可以用于治疗选自本发明的血液学癌症或本发明的血液学细胞增殖性病症的癌症。本发明的血液学癌症可以包括多发性骨髓瘤、淋巴瘤（包括何杰金氏淋巴瘤、非何杰金氏淋巴瘤、儿童期淋巴瘤、以及淋巴细胞和皮肤起源的淋巴瘤）、白血病（包括儿童期白血病、多毛细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓细胞白血病、慢性髓性白血病和肥大细胞白血病）、髓样瘤和肥大细胞瘤。

[0096] “肺的细胞增殖性病症”是涉及肺细胞的细胞增殖性病症。肺的细胞增殖性病症可以包括影响肺细胞的所有形式的细胞增殖性病症。肺的细胞增殖性病症可以包括肺癌、肺的初癌或癌前状况、肺的良性生长或病灶、和肺的恶性生长或病灶、和在体内除肺外的组织和器官中的转移性病灶。优选地，本发明的组合物可以用于治疗肺癌或肺的细胞增殖性病症。肺癌可以包括所有形式的肺癌。肺癌可以包括恶性肿瘤、原位癌、典型类癌瘤和非典型类癌瘤。肺癌可以包括小细胞肺癌（“SCLC”）、非小细胞肺癌（“NSCLC”）、非鳞状非小细胞肺癌、鳞状非小细胞肺癌、鳞状细胞癌、非鳞状细胞癌、腺癌、小细胞癌、大细胞癌、腺鳞癌细胞癌和间皮瘤。肺癌可以包括“瘢痕癌”、细支气管肺泡癌、巨细胞癌、梭形细胞癌和大细胞神经内分泌癌。肺癌可以包括具有组织学和超微结构异质性（例如混合细胞型）的肺

肿瘤。

[0097] 肺的细胞增殖性病症可以包括影响肺细胞的所有形式的细胞增殖性病症。肺的细胞增殖性病症可以包括肺癌、肺的癌前状况。肺的细胞增殖性病症可以包括肺的增生、化生和发育不良。肺的细胞增殖性病症可以包括石棉诱导的增生、鳞状化生和良性反应性间皮细胞化生。肺的细胞增殖性病症可以包括柱状上皮由复层鳞状水平的替换, 和粘膜发育不良。暴露于吸入的有害环境因素例如香烟烟雾和石棉的个体可以处于发展肺的细胞增殖性病症的增加危险中。可以使个体倾向于发展肺的细胞增殖性病症的先前肺疾病可以包括慢性间质性肺病、坏死性肺部疾病、硬皮病、类风湿病、肉瘤样病、间质性肺炎、肺结核、反复性肺炎、特发性肺纤维化、肉芽肿、石棉沉滞症、纤维化肺泡炎和何杰金氏病。

[0098] “结肠的细胞增殖性病症”是涉及结肠细胞的细胞增殖性病症。优选地, 结肠的细胞增殖性病症是结肠癌。优选地, 本发明的组合物可以用于治疗结肠癌或结肠的细胞增殖性病症。结肠癌可以包括所有形式的结肠癌症。结肠癌可以包括散发性和遗传性结肠癌。结肠癌可以包括恶性结肠瘤、原位癌、典型类癌瘤和非典型类癌瘤。结肠癌可以包括腺癌、鳞状细胞癌和腺鳞癌细胞癌。结肠癌可以与选自下述的遗传性综合征相关: 遗传性非息肉病性结肠直肠癌、家族性腺瘤性息肉病、Gardner's 综合征、Peutz-Jeghers 综合征、Turcot's 综合征和幼年性息肉病。结肠癌可以由选自下述的遗传性综合征引起: 遗传性非息肉病性结肠直肠癌、家族性腺瘤性息肉病、Gardner's 综合征、Peutz-Jeghers 综合征、Turcot's 综合征和幼年性息肉病。

[0099] 结肠的细胞增殖性病症可以包括影响结肠细胞的所有形式的细胞增殖性病症。结肠的细胞增殖性病症可以包括结肠癌、结肠的癌前状况、结肠的腺瘤性息肉和结肠的异时性病灶。结肠的细胞增殖性病症可以包括腺瘤。结肠的细胞增殖性病症可以特征在于结肠的增生、化生和发育不良。可以使个体倾向于发展结肠的细胞增殖性病症的先前结肠病可以包括先前结肠癌。可以使个体倾向于发展结肠的细胞增殖性病症的目前疾病可以包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。结肠的细胞增殖性病症可以与选自 p53、ras、FAP 和 DCC 的基因中的突变相关。由于选自 p53、ras、FAP 和 DCC 的基因中的突变的存在, 个体可以具有发展结肠的细胞增殖性病症的升高危险。

[0100] “前列腺的细胞增殖性病症”是涉及前列腺细胞的细胞增殖性病症。前列腺的细胞增殖性病症可以包括影响前列腺细胞的所有形式的细胞增殖性病症。前列腺的细胞增殖性病症可以包括前列腺癌、前列腺的初癌或癌前状况、前列腺的良性生长或病灶、和前列腺的恶性生长或病灶、和在体内除前列腺外的组织和器官中的转移性病灶。前列腺的细胞增殖性病症可以包括前列腺的增生、化生和发育不良。

[0101] “皮肤的细胞增殖性病症”是涉及皮肤细胞的细胞增殖性病症。皮肤的细胞增殖性病症可以包括影响皮肤细胞的所有形式的细胞增殖性病症。皮肤的细胞增殖性病症可以包括皮肤的初癌或癌前状况、皮肤的良性生长或病灶、黑素瘤、恶性黑素瘤和皮肤的其他恶性生长或病灶、和在体内除皮肤外的组织和器官中的转移性病灶。皮肤的细胞增殖性病症可以包括皮肤的增生、化生和发育不良。

[0102] “卵巢的细胞增殖性病症”是涉及卵巢细胞的细胞增殖性病症。卵巢的细胞增殖性病症可以包括影响卵巢细胞的所有形式的细胞增殖性病症。卵巢的细胞增殖性病症可以包括卵巢的初癌或癌前状况、卵巢的良性生长或病灶、卵巢癌、卵巢的恶性生长或病灶、和

在体内除卵巢外的组织和器官中的转移性病灶。皮肤的细胞增殖性病症可以包括卵巢的增生、化生和发育不良。

[0103] “乳腺的细胞增殖性病症”是涉及乳腺细胞的细胞增殖性病症。乳腺的细胞增殖性病症可以包括影响乳腺细胞的所有形式的细胞增殖性病症。乳腺的细胞增殖性病症可以包括乳腺癌、乳腺的初癌或癌前状况、乳腺的良性生长或病灶、和乳腺的恶性生长或病灶、和在体内除乳腺外的组织和器官中的转移性病灶。乳腺的细胞增殖性病症可以包括乳腺的增生、化生和发育不良。

[0104] 乳腺的细胞增殖性病症可以是乳腺的癌前状况。本发明的组合物可以用于治疗乳腺的癌前状况。乳腺的癌前状况可以包括乳腺的非典型增生、原位导管癌 (DCIS)、导管内癌、原位小叶癌 (LCIS)、小叶瘤、和乳腺的 0 期或 0 级生长或病灶 (例如 0 期或 0 级乳腺癌、或原位癌)。乳腺的癌前状况可以根据如由美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer) (AJCC) 公认的 TNM 分类法方案进行分期，其中原发性肿瘤 (T) 已指定 T0 或 Tis 期；并且其中局部淋巴结 (N) 已指定 N0 期；并且其中远处转移 (M) 已指定 M0 期。

[0105] 乳腺的细胞增殖性病症可以是乳腺癌。优选地，本发明的组合物可以用于治疗乳腺癌。乳腺癌包括所有形式的乳腺癌症。乳腺癌可以包括原发性上皮乳腺癌。乳腺癌可以包括其中乳腺由其他肿瘤例如淋巴瘤、肉瘤或黑素瘤涉及的癌症。乳腺癌可以包括乳腺的癌、乳腺的导管癌、乳腺的小叶癌、乳腺的未分化癌、乳腺的叶状囊性肉瘤、乳腺的血管肉瘤、和乳腺的原发性淋巴瘤。乳腺癌可以包括 I、II、IIIA、IIIB、IIIC 和 IV 期乳腺癌。乳腺的导管癌可以包括侵袭癌、具有占优势的导管内组分的侵袭性原位癌、炎性乳腺癌、和具有选自下述的组织学类型的乳腺的导管癌：粉刺、粘蛋白状 (胶体)、髓质、具有淋巴细胞浸润的髓质、乳突、硬癌和管状。乳腺的小叶癌可以包括具有占优势的原位组分的侵袭性小叶癌、侵袭性小叶癌和浸润性小叶癌。乳腺癌可以包括佩吉特病、佩吉特病伴导管内癌、和佩吉特病伴侵袭性导管癌。乳腺癌可以包括具有组织学和超微结构异质性 (例如混合细胞型) 的乳腺肿瘤。

[0106] 优选地，本发明的化合物可以用于治疗乳腺癌。待治疗的乳腺癌可以包括家族性乳腺癌。待治疗的乳腺癌可以包括散发性乳腺癌。待治疗的乳腺癌可以在男性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可以在女性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可以在绝经前女性受试者或绝经后女性受试者中出现。待治疗的乳腺癌可以在等于或大于 30 岁的受试者或小于 30 岁的受试者中出现。待治疗的乳腺癌可以在等于或大于 50 岁的受试者或小于 50 岁的受试者中出现。待治疗的乳腺癌可以在等于或大于 70 岁的受试者或小于 70 岁的受试者中出现。

[0107] 待治疗的乳腺癌可以进行分型，以鉴定在 BRCA1、BRCA2 或 p53 中的家族性或自发性突变。待治疗的乳腺癌可以分型为具有 HER2/neu 基因扩增，超表达 HER2/neu，或具有低、中或高水平的 HER2/neu 表达。待治疗的乳腺癌可以就选自下述的标记进行分型：雌激素受体 (ER)，孕酮受体 (PR)，人表皮生长因子受体 -2、Ki-67、CA15-3、CA 27-29 和 c-Met。待治疗的乳腺癌可以分型为 ER 未知、富含 ER 或弱 ER 的。待治疗的乳腺癌可以分型为 ER 阴性或 ER 阳性的。乳腺癌的 ER 分型可以通过任何可重现手段执行。乳腺癌的 ER 分型可以如 Onkologie 27: 175-179 (2004) 中所述执行。待治疗的乳腺癌可以分型为 PR 未知、富含 PR 或弱 PR 的。待治疗的乳腺癌可以分型为 PR 阴性或 PR 阳性的。待治疗的乳腺癌可以分型

为受体阳性的或受体阴性的。待治疗的乳腺癌可以分型为与 CA 15-3 或 CA 27-29 或两者的升高血液水平相关的。

[0108] 待治疗的乳腺癌可以包括乳腺的局限性肿瘤。待治疗的乳腺癌可以包括与阴性前哨淋巴结 (SLN) 活组织检查相关的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可以包括与阳性前哨淋巴结 (SLN) 活组织检查相关的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可以包括与一个或多个阳性腋窝淋巴结相关的乳腺肿瘤，其中腋窝淋巴结已通过任何可应用方法进行分期。待治疗的乳腺癌可以包括已分型为具有结节阴性状态（例如结节阴性）或结节阳性状态（例如结节阳性）的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可以包括已转移至体内的其他部位的乳腺肿瘤。待治疗的乳腺癌可以分类为已转移至选自骨、肺、肝或脑的部位。待治疗的乳腺癌可以根据选自下述的特征进行分类：转移性、局限性、区域、局部 - 区域、局部进展、远端、多中心、双侧、同侧、对侧、新近诊断、复发和不能手术的。

[0109] 本发明的化合物可以在相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者中用于治疗或预防乳腺的细胞增殖性病症，或治疗或预防乳腺癌。相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者是具有乳腺癌的家族史或个人史的女性受试者。相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者是具有在 BRCA1 或 BRCA2 或两者中的种系或自发性突变的女性受试者。相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者是具有乳腺癌的家族史和在 BRCA1 或 BRCA2 或两者中的种系或自发性突变的女性受试者。相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者是大于 30 岁、大于 40 岁、大于 50 岁、大于 60 岁、大于 70 岁、大于 80 岁、或大于 90 岁的女性。相对于大多数群体具有发展乳腺癌的增加危险的受试者是具有乳腺的非典型增生、原位导管癌 (DCIS)、导管内癌、原位小叶癌 (LCIS)、小叶瘤、或乳腺的 0 期生长或病灶（例如 0 期或 0 级乳腺癌、或原位癌）的受试者。

[0110] 待治疗的乳腺癌可以根据 Scarff-Bloom-Richardson 系统进行组织学分级，其中乳腺肿瘤已指定 1、2 或 3 的有丝分裂计数得分；1、2 或 3 的核多型性得分；1、2 或 3 的管形成得分；和在 3 - 9 之间的总 Scarff-Bloom-Richardson 得分。待治疗的乳腺癌可以根据 International Consensus Panel on the Treatment of Breast Cancer 指定选自 1 级、1-2 级、2 级、2-3 级或 3 级的肿瘤分级。

[0111] 待治疗的癌症可以根据美国癌症联合委员会 (AJCC) TNM 分类法系统进行分期，其中肿瘤 (T) 已指定 TX、T1、T1mic、T1a、T1b、T1c、T2、T3、T4、T4a、T4b、T4c 或 T4d 期；并且其中局部淋巴结 (N) 已指定 NX、N0、N1、N2、N2a、N2b、N3、N3a、N3b 或 N3c 期；并且其中远处转移 (M) 已指定 MX、M0 或 M1 期。待治疗的癌症可以根据美国癌症联合委员会 (AJCC) 分类法分期为 I 期、IIA 期、IIB 期、IIIA 期、IIIB 期、IIIC 期或 IV 期。待治疗的癌症可以根据 AJCC 分类法指定作为 GX 级（例如无法评估级别）、1 级、2 级、3 级或 4 级的分级。待治疗的癌症可以根据 AJCC 病理学分类法 (pN) 分期为 pNX、pN0、pN0(I-)、pN0(I+)、pN0(m0-)、pN0(m0+)、pN1、pN1(mi)、pN1a、pN1b、pN1c、pN2、pN2a、pN2b、pN3、pN3a、pN3b 或 pN3c。

[0112] 待治疗的癌症可以包括已测定为直径小于或等于约 2 厘米的肿瘤。待治疗的癌症可以包括已测定为直径约 2 到约 5 厘米的肿瘤。待治疗的癌症可以包括已测定为直径大于或等于约 3 厘米的肿瘤。待治疗的癌症可以包括已测定为直径大于 5 厘米的肿瘤。待治疗的癌症可以通过显微外观分类为分化良好、中等分化、分化不良或未分化的。待治疗的癌症可以通过显微外观就有丝分裂计数（例如细胞分裂的量）或核多型性（例如细胞中的变

化)而言进行分类。待治疗的癌症可以通过显微外观分类为与坏死面积(例如濒死或变性细胞的面积)相关。待治疗的癌症可以分类为具有异常核型、具有异常数目的染色体、或具有在外观中异常的一个或多个染色体。待治疗的癌症可以分类为是非整倍体、三倍体、四倍体或具有改变的倍数性。待治疗的癌症可以分类为具有染色体易位,或整个染色体的缺失或复制,或染色体部分的缺失、复制或扩增区域。

[0113] 待治疗的癌症可以通过DNA细胞计量术、流式细胞术或图像细胞计量术进行评价。待治疗的癌症可以分型为具有在细胞分裂的合成期中(例如在细胞分裂的S期中)的10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%细胞。待治疗的癌症可以分型为具有低S期部分或高S期部分。

[0114] 如本文使用的,“正常细胞”是不能分类为“细胞增殖性病症”的部分的细胞。正常细胞缺乏未调节或异常生长或两者,其可以导致不需要的状况或疾病的发展。优选地,正常细胞通常具有功能细胞周期检查点控制机制。

[0115] 如本文使用的,“接触细胞”指其中化合物或其他物质组合物与细胞直接接触,或足够接近以诱导细胞中的所需生物学效应的状态。

[0116] 如本文使用的,“候选化合物”指已在或将在一种或多种体外或体内生物学测定中测试的本发明的化合物,以便测定那种化合物是否可能在细胞、组织、系统、动物或人中引发研究者或临床医生寻求的所需生物学或医学应答。候选化合物是包含下述的药物组合物:(a)具有如通过HPLC测定的超过99%的手性纯度且含有小于1%(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮,和药学可接受的载体;(b)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂;或(c)(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物,其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0°2θ处包含峰的X射线粉末衍射图,和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。生物学或医学应答可以是癌症的治疗。生物学或医学应答可以是细胞增殖性病症的治疗或预防。体外或体内生物学测定可以包括但不限于酶促活性测定、电泳迁移率变动测定、报道基因测定、体外细胞生存测定和本文描述的测定。

[0117] 如本文使用的,“单一疗法”指单一活性或治疗化合物对于有此需要的受试者的施用。优选地,单一疗法将涉及活性化合物的治疗有效量的施用。例如,利用本发明的化合物之一或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物对于需要癌症治疗的受试者的癌症单一疗法。单一疗法可以与组合疗法形成对比,其中施用多种活性化合物的组合,优选利用以治疗有效量存在的组合的每种组分。在一个方面,利用本发明的化合物的单一疗法在诱导所需生物学效应中比组合疗法更有效。

[0118] 如本文使用的,“治疗”描述患者的管理和护理用于对抗疾病、状况或病症的目的,并且包括本发明的化合物的施用,以减轻疾病、状况或病症的症状或并发症,或消除疾病、状况或病症。

[0119] 本发明的化合物还可以用于预防疾病、状况或病症。如本文使用的,“预防”描述减

少或消除疾病、状况或病症的症状或并发症的发作。

[0120] 治疗癌症可以导致肿瘤大小的减少。肿瘤大小的减少还可以称为“肿瘤消退”。优选地，在治疗后，肿瘤大小相对于其在治疗前的大小减少 5% 或更多；更优选地，肿瘤大小减少 10% 或更多；更优选地，减少 20% 或更多；更优选地，减少 30% 或更多；更优选地，减少 40% 或更多；更加优选地，减少 50% 或更多；且最优选地，减少 75% 或更多。肿瘤的大小可以通过任何可重现的测量手段进行测量。肿瘤的大小可以作为肿瘤的直径进行测量。

[0121] 治疗癌症可以导致肿瘤体积的减少。优选地，在治疗后，肿瘤体积相对于其在治疗前的大小减少 5% 或更多；更优选地，肿瘤体积减少 10% 或更多；更优选地，减少 20% 或更多；更优选地，减少 30% 或更多；更优选地，减少 40% 或更多；更加优选地，减少 50% 或更多；且最优选地，减少 75% 或更多。肿瘤体积可以通过任何可重现的测量手段进行测量。

[0122] 治疗癌症导致肿瘤数目的减少。优选地，在治疗后，肿瘤数目相对于在治疗前的数目减少 5% 或更多；更优选地，肿瘤数目减少 10% 或更多；更优选地，减少 20% 或更多；更优选地，减少 30% 或更多；更优选地，减少 40% 或更多；更加优选地，减少 50% 或更多；且最优选地，减少 75% 或更多。肿瘤的数目可以通过任何可重现的测量手段进行测量。肿瘤的数目可以通过计数对于肉眼可见的肿瘤或在指定放大率下进行测量。优选地，指定放大率是 2x、3x、4x、5x、10x 或 50x。

[0123] 治疗癌症可以导致远离原发性肿瘤部位的其他组织或器官中转移性病灶数目的减少。优选地，在治疗后，转移性病灶数目相对于在治疗前的数目减少 5% 或更多；更优选地，转移性病灶数目减少 10% 或更多；更优选地，减少 20% 或更多；更优选地，减少 30% 或更多；更优选地，减少 40% 或更多；更加优选地，减少 50% 或更多；且最优选地，减少超过 75%。转移性病灶数目可以通过任何可重现的测量手段进行测量。转移性病灶数目可以通过计数对于肉眼可见的转移性病灶或在指定放大率下进行测量。优选地，指定放大率是 2x、3x、4x、5x、10x 或 50x。

[0124] 治疗癌症可以导致与接受单独的载体的群体相比较，在治疗受试者的群体的平均存活时间中的增加。优选地，平均存活时间增加超过 30 天；更优选地，超过 60 天；更优选地，超过 90 天；且最优选地，超过 120 天。群体的平均存活时间中的增加可以通过任何可重现的手段进行测量。群体的平均存活时间中的增加可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的治疗起始后的平均存活时长进行测量。群体的平均存活时间中的增加还可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的第一轮治疗完成后的平均存活时长进行测量。

[0125] 治疗癌症可以导致与未治疗受试者的群体相比较，在治疗受试者的群体的平均存活时间中的增加。优选地，平均存活时间增加超过 30 天；更优选地，超过 60 天；更优选地，超过 90 天；且最优选地，超过 120 天。群体的平均存活时间中的增加可以通过任何可重现的手段进行测量。群体的平均存活时间中的增加可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的治疗起始后的平均存活时长进行测量。群体的平均存活时间中的增加还可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的第一轮治疗完成后的平均存活时长进行测量。

[0126] 治疗癌症可以导致与接受用药物的单一疗法的群体相比较，在治疗受试者的群体的平均存活时间中的增加，所述药物不是本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物。优选地，平均存活时间增加超过 30 天；更优选地，超过 60 天；更优选地，超过 90 天；且最优选地，超过 120 天。群体的平均存活时间中的增加可以通

过任何可重现的手段进行测量。群体的平均存活时间中的增加可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的治疗起始后的平均存活时长进行测量。群体的平均存活时间中的增加还可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的第一轮治疗完成后的平均存活时长进行测量。

[0127] 治疗癌症可以导致与接受单独的载体的群体相比较，在治疗受试者的群体的死亡率中的减少。治疗癌症可以导致与未治疗群体相比较，在治疗受试者的群体的死亡率中的减少。治疗癌症可以导致与接受用药物的单一疗法的群体相比较，在治疗受试者的群体的死亡率中的减少，所述药物不是本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物。优选地，死亡率减少超过 2%，更优选地，超过 5%；更优选地，超过 10%；且最优选地，超过 25%。治疗受试者的群体的死亡率中的减少可以通过任何可重现的手段进行测量。群体的死亡率中的减少可以例如通过对于群体计算在用活性化合物治疗起始后的疾病相关死亡的平均数目 / 单位时间进行测量。群体的死亡率中的减少还可以例如通过对于群体计算在用活性化合物的第一轮治疗完成后的疾病相关死亡的平均数目 / 单位时间进行测量。

[0128] 治疗癌症可以导致肿瘤生长率中的减少。优选地，在治疗后，肿瘤生长率相对于在治疗前的数目减少至少 5%；更优选地，肿瘤生长率减少至少 10%；更优选地，减少至少 20%；更优选地，减少至少 30%；更优选地，减少至少 40%；更优选地，减少至少 50%；更加优选地，减少至少 50%；且最优选地，减少至少 75%。肿瘤生长率可以通过任何可重现的测量手段进行测量。肿瘤生长率可以根据肿瘤直径中的变化 / 单位时间进行测量。

[0129] 治疗癌症可以导致肿瘤再生长中的减少。优选地，在治疗后，肿瘤再生长小于 5%；更优选地，肿瘤再生长小于 10%；更优选地，小于 20%；更优选地，小于 30%；更优选地，小于 40%；更优选地，小于 50%；更加优选地，小于 50%；且最优选地，小于 75%。肿瘤再生长可以通过任何可重现的测量手段进行测量。肿瘤再生长例如通过测量在治疗后的先前肿瘤萎缩后的肿瘤直径中的增加进行测量。肿瘤再生长中的减少通过在治疗已停止后缺乏重新出现的肿瘤得到指示。

[0130] 治疗或预防细胞增殖性病症可以导致细胞增殖的速率中的减少。优选地，在治疗后，细胞增殖的速率减少至少 5%；更优选地，至少 10%；更优选地，至少 20%；更优选地，至少 30%；更优选地，至少 40%；更优选地，至少 50%；更加优选地，至少 50%；且优选地，至少 75%。细胞增殖的速率可以通过任何可重现的测量手段进行测量。细胞增殖的速率例如通过测量组织样品中分裂细胞的数目 / 单位时间进行测量。

[0131] 治疗或预防细胞增殖性病症可以导致增殖细胞的比例中的减少。优选地，在治疗后，增殖细胞的比例减少至少 5%；更优选地，至少 10%；更优选地，至少 20%；更优选地，至少 30%；更优选地，至少 40%；更优选地，至少 50%；更加优选地，至少 50%；且优选地，至少 75%。增殖细胞的比例可以通过任何可重现的测量手段进行测量。优选地，增殖细胞的比例例如通过相对于组织样品中非分裂细胞的数目定量分裂细胞的数目进行测量。增殖细胞的比例可以等价于有丝分裂指数。

[0132] 治疗或预防细胞增殖性病症可以导致细胞增殖的区域或区带大小中的减少。优选地，在治疗后，细胞增殖的区域或区带的大小相对于其在治疗前的大小减少至少 5%；更优选地，减少至少 10%；更优选地，减少至少 20%；更优选地，减少至少 30%；更优选地，减少至

少 40% ;更加优选地,减少至少 50% ;且最优选地,减少至少 75%。细胞增殖的区域或区带的大小可以通过任何可重现的测量手段进行测量。细胞增殖的区域或区带的大小可以作为细胞增殖的区域或区带的直径或宽度进行测量。

[0133] 治疗或预防细胞增殖性病症可以导致具有异常外观或形态的细胞数目或比例中的减少。优选地,在治疗后,具有异常形态的细胞数目相对于其在治疗前的大小减少至少 5% ;更优选地,减少至少 10% ;更优选地,减少至少 20% ;更优选地,减少至少 30% ;更优选地,减少至少 40% ;更加优选地,减少至少 50% ;且最优选地,减少至少 75%。异常细胞外观或形态可以通过任何可重现的测量手段进行测量。异常细胞形态可以通过显微镜检查例如使用倒置组织培养显微镜进行测量。异常细胞形态可以采取核多型性的形式。

[0134] 如本文使用的,术语“选择性”意指趋于在一个群体中比在另一个群体中以更高频率发生。比较的群体可以是细胞群体。优选地,本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物,选择性作用于癌或癌前细胞,而不是正常细胞。优选地,本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物,选择性作用于调节一种分子靶(例如 c-met),而不是显著调节另一种分子靶(例如蛋白激酶 C)。本发明还提供了用于选择性抑制酶例如激酶的活性的方法。优选地,如果与群体 B 相比较,事件在群体 A 中超过 2 倍更频繁地出现,那么相对于群体 B,它在群体 A 中选择性发生。如果事件在群体 A 中超过 5 倍更频繁地发生,那么它选择性发生。如果与群体 B 相比较,事件在群体 A 中超过 10 倍更频繁地发生;更优选地,超过 50 倍;更加优选地,超过 100 倍;和最优选地,比在群体 A 中超过 1000 倍更频繁地发生,那么它选择性发生。例如,如果与正常细胞相比较,细胞死亡在癌细胞中超过 2 倍频繁地发生,那么它将被说成在癌细胞中选择性发生。

[0135] 本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物,可以调节分子靶(例如 c-met)的活性。调节指刺激或抑制分子靶的活性。优选地,如果相对于在相同条件但仅缺乏所述化合物的存在下分子靶的活性,本发明的化合物刺激或抑制分子靶的活性至少 2 倍,那么它调节分子靶的活性。更优选地,如果相对于在相同条件但仅缺乏所述化合物的存在下分子靶的活性,本发明的化合物刺激或抑制分子靶的活性至少 5 倍、至少 10 倍、至少 20 倍、至少 50 倍、至少 100 倍,那么它调节分子靶的活性。分子靶的活性可以通过任何可重现的手段进行测量。分子靶的活性可以在体外或体内进行测量。例如,分子靶的活性可以在体外通过酶促活性测定或 DNA 结合测定进行测量,或分子靶的活性可以在体内通过测定报道基因的表达进行测量。

[0136] 如果相对于在相同条件但仅缺乏所述化合物的存在下分子靶的活性,化合物的添加不刺激或抑制分子靶的活性超过 10%,那么本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物不显著调节分子靶的活性。

[0137] 如本文使用的,术语“同工酶选择性的”意指与酶的第二种同种型相比较,酶的第一种同种型的优先抑制或刺激(例如,与激酶同工酶 β 相比较,激酶同工酶 α 的优先抑制或刺激)。优选地,本发明的化合物证实达到生物学效应的所需剂量中的最低限度 4 倍差异、优选 10 倍差异、更优选 50 倍差异。优选地,本发明的化合物证实这种差异跨越抑制范围,并且差异在对于目的分子靶的 IC_{50} 即 50% 抑制时例证。

[0138] 给有此需要的细胞或受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药

物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物可以导致目的激酶的活性的调节（即刺激或抑制）。

[0139] 本发明提供了评估组合物的生物学活性的方法，所述组合物包含 (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮的 (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮；(b) (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮的 1 型多晶型物，其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图；或 (c) (-)- 反式 -3-(5, 6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3, 2, 1-ij] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2, 5- 二酮的 2 型多晶型物，其特征在于使用 Cu K α 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图。

[0140] 在一种方法中，可以利用基于酶促活性的测定。在一种特异性酶促活性测定中，酶促活性来自激酶。如本文使用的，“激酶”指酶的大类，其催化 γ - 磷酸盐从 ATP 到蛋白质和肽中的 Ser/Thr 或 Tyr 侧链上的羟基的转移，并且密切涉及多种重要细胞功能的控制，可能最值得注意的是：信号转导、分化和增殖。估计在人体中存在约 2,000 种不同的蛋白质激酶，并且尽管这些各自磷酸化特定蛋白质 / 肽底物，但它们都结合在高度保守袋中的相同第二种底物 ATP。约 50% 的已知癌基因产物是蛋白质酪氨酸激酶 (PTKs)，并且它们的激酶活性已显示导致细胞形成。优选地，测定的激酶是酪氨酸激酶。

[0141] 通过本发明的化合物引起的酶促活性中的变化可以在公开的测定中进行测量。酶促活性中的变化可以特征在于特定底物的磷酸化程度中的变化。如本文使用的，“磷酸化”指磷酸基对底物包括蛋白质和有机分子的添加；且在调节蛋白质的生物学活性中起重要作用。优选地，测定且测量的磷酸化涉及磷酸基对酪氨酸残基的添加。底物可以是肽或蛋白质。

[0142] 在某些测定中，采用免疫学反应物例如抗体和抗原。荧光可以在某些测定中用于酶促活性的测量中。如本文使用的，“荧光”指由于通过相同分子吸收更高能量的入射光子，分子通过其发出光子的过程。

[0143] 给有此需要的细胞或受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，可以导致 c-Met 的活性的调节（即刺激或抑制）。如本文使用的，c-Met 的活性指由 c-Met 执行的任何生物学功能或活性。例如，c-Met 的功能包括下游靶蛋白的磷酸化。c-Met 的其他功能包括自磷酸化、衔接蛋白质例如 Gab-1、Grb-2、Shc、SHP2 和 c-Cbl 的结合，和信号转导蛋白例如 Ras、Src、PI3K、PLC-γ、STATs、ERK1 和 2 和 FAK 的激活。

[0144] 给有此需要的细胞或受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，可以导致 ERK 1 或 ERK 2 或两者的活性的调节（即刺激或抑制）。如本文使用的，ERK 1 或 ERK 2 的活性指由 ERK 1 或 ERK 2 执行的任何生物学功能或活性。例如，ERK 1 或 ERK 2 的功能包括下游靶蛋白的磷酸化。

[0145] 激活指将物质组合物（例如蛋白质或核酸）置于适合于执行所需生物学功能的状态。能够被激活的物质组合物也具有未激活状态。激活的物质组合物可以具有抑制或刺激生物学功能或两者。

[0146] 升高指物质组合物（例如蛋白质或核酸）的所需生物学活性中的增加。升高可以

通过物质组合物的浓度中的增加而发生。

[0147] 如本文使用的，“细胞周期检查点途径”指涉及细胞周期检查点的调节的生物化学途径。细胞周期检查点途径可以对包含细胞周期检查点的一种或多种功能具有刺激或抑制作用或两者。细胞周期检查点途径包含至少两种物质组合物，优选蛋白质，其中两者都促成细胞周期检查点的调节。细胞周期检查点途径可以通过细胞周期检查点途径的一个或多个成员的激活得到激活。优选地，细胞周期检查点途径是生物化学信号传导途径。

[0148] 如本文使用的，“细胞周期检查点调节物”指可以在细胞周期检查点的调节中至少部分起作用的物质组合物。细胞周期检查点调节物可以对包含细胞周期检查点的一种或多种功能具有刺激或抑制作用或两者。细胞周期检查点调节物可以是蛋白质或不是蛋白质。

[0149] 治疗癌症或细胞增殖性病症可以导致细胞死亡，且优选地，细胞死亡导致群体中细胞数目中至少 10% 的减少。更优选地，细胞死亡意指至少 20% 的减少；更优选地，至少 30% 的减少；更优选地，至少 40% 的减少；更优选地，至少 50% 的减少；最优选地，至少 75% 的减少。群体中的细胞数目可以通过任何可重现的手段进行测量。群体中的细胞数目可以通过荧光激活细胞分选 (FACS)、免疫荧光显微镜检查和光学显微镜检查进行测量。测量细胞死亡的方法显示于 Li 等人，(2003) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100(5)：2674–8 中。在一个方面，细胞死亡通过凋亡而发生。

[0150] 优选地，本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物的有效量对于正常细胞不是显著细胞毒性的。如果以治疗有效量的化合物的施用不在超过 10% 的正常细胞中诱导细胞死亡，那么化合物的治疗有效量对于正常细胞不是显著细胞毒性的。如果以治疗有效量的化合物的施用不在超过 10% 的正常细胞中诱导细胞死亡，那么化合物的治疗有效量不显著影响正常细胞的生存力。在一个方面，细胞死亡通过凋亡而发生。

[0151] 使细胞与本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物接触，可以在癌细胞中选择性诱导或激活细胞死亡。给有此需要的受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，可以在癌细胞中选择性诱导或激活细胞死亡。使细胞与本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物接触，可以在受细胞增殖性病症影响的一种或多种细胞中选择性诱导细胞死亡。优选地，给有此需要的细胞或受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，在受细胞增殖性病症影响的一种或多种细胞中选择性诱导细胞死亡。

[0152] 本发明涉及通过给有此需要的受试者施用本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，治疗或预防癌症的方法，其中本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物的施用导致下述中的一种或多种：在细胞周期的 G1 和 / 或 S 期中的细胞累积，在癌细胞中经由细胞死亡的细胞毒性而在正常细胞中无显著量的细胞死亡，具有至少 2 的治疗指数在动物中的抗肿瘤活性，和细胞周期检查点的激活。如本文使用的，“治疗指数”是最大限度耐受剂量除以有效剂量。

[0153] 关于本文讨论的已知技术或等价技术的详细描述，本领域技术人员可以参考一般参考教科书。这些教科书包括 Ausubel 等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley 和 Sons, Inc. (2005) ;Sambrook 等人, *Molecular Cloning, A Laboratory*

Manual(第3版), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York(2000); Coligan 等人, *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna 等人, *Current Protocols in Pharmacology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl 等人, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*(1975), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 第18版(1990)。这些教科书当然还可以在制备或使用本发明的方面中参考。

[0154] 如本文使用的,“组合疗法”或“协同疗法 (co-therapy)”包括本发明的化合物和至少第二种试剂的施用作为特异性治疗方案的部分,所述治疗方案预期提供来自这些治疗剂的共同作用的有利效应。组合的有利效应包括但不限于起因于治疗剂的组合的药物代谢动力学或药效共同作用。这些治疗剂以组合的施用一般经过限定时间段(通常为数分钟、数小时、数天或数周,取决于选择的组合)执行。“组合疗法”可以是但一般不预期包含这些治疗剂中的两种或更多种的施用作为分开的单一疗法方案的部分,所述分开的单一疗法方案偶然且任意地导致本发明的组合。

[0155] “组合疗法”预期包含这些治疗剂以序贯方式的施用,其中每种治疗剂在不同时间施用,以及这些治疗剂或治疗剂中的至少两种以基本上同时方式的施用。基本上同时的施用可以例如通过给受试者施用具有每种治疗剂的固定比的单个胶囊或对于治疗剂各自在多重单个胶囊中施用来完成。每种治疗剂的序贯或基本上同时的施用可以通过任何合适途径实现,包括但不限于口服途径、静脉内途径、肌内途径和通过粘膜组织的任何直接吸收。治疗剂可以通过相同途径或通过不同途径施用。例如,所选组合的第一种治疗剂可以通过静脉内注射进行施用,而组合的其他治疗剂可以口服施用。可替代地,例如,所有治疗剂可以口服施用,或所有治疗剂可以通过静脉内注射进行施用。治疗剂在其中施用的顺序不是非常关键的。

[0156] “组合疗法”还包含与其他生物学活性成分和非药物疗法(例如手术或放射治疗)进一步组合的如上所述的治疗剂的施用。当组合疗法进一步包含非药物治疗时,非药物治疗可以在任何合适时间进行,只要达到来自治疗剂和非药物治疗的组合的共同作用的有利效应。例如,在合适情况下,当非药物治疗从治疗剂的施用中短暂去除时,可能数天或甚至数周,仍达到有利效应。

[0157] 本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物可以与第二种化学治疗剂组合施用。第二种化学治疗剂可以是紫杉烷、芳香酶抑制剂、蒽环、微管靶向药物、拓扑异构酶毒药、靶向单克隆或多克隆抗体、分子靶或酶的抑制剂(例如激酶抑制剂)、或胞苷类似药物。优选地,化学治疗剂可以是但不限于它莫西芬、雷洛昔芬、阿那曲唑、依西美坦、来曲唑、HERCEPTIN®(曲妥珠单抗)、GLEEVEC®(伊马替尼(imatanib))、TAXOL®(紫杉醇)、环磷酰胺、洛伐他汀、minosine、araC、5-氟尿嘧啶(5-FU)、氨甲蝶呤(MTX)、TAXOTERE®(多西他赛)、ZOLADEX®(戈舍瑞林)、长春新碱、长春碱、诺考达唑、替尼泊苷、依托泊苷、GEMZAR®(吉西他滨)、环氧噻唑酮、诺维本、喜树碱、柔红霉素(daunorubicin)、更生霉素、米托蒽醌、安吖啶、多柔比星(阿霉素)、表柔比星或伊达比星。第二种化学治疗剂可以是细胞因子例如G-CSF(粒细胞集落刺激因子)。本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物,可以与放射疗法组合施用。本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物,可以

与标准化学疗法组合施用，例如但不限于 CMF(环磷酰胺、氨甲蝶呤和 5-氟尿嘧啶)、CAF(环磷酰胺、阿霉素和 5-氟尿嘧啶)、AC(阿霉素和环磷酰胺)、FEC(5-氟尿嘧啶、表柔比星和环磷酰胺)、ACT 或 ATC(阿霉素、环磷酰胺和紫杉醇)、或 CMFP(环磷酰胺、氨甲蝶呤、5-氟尿嘧啶和泼尼松)。

[0158] 本发明的化合物或其药学可接受的盐、前体药物、代谢产物、多晶型物或溶剂化物，可以与酶的抑制剂例如受体或非受体激酶一起施用。本发明的受体和非受体激酶是例如酪氨酸激酶或丝氨酸 / 苏氨酸激酶。本发明的激酶抑制剂是小分子、多核酸、多肽或抗体。

[0159] 示例性酪氨酸激酶包括但不限于贝伐珠单抗(靶向 VEGF)、BIBW 2992(靶向 EGFR 和 Erb2)、西妥昔单抗 / 爱必妥(靶向 Erb1)、伊马替尼 / 格列卫(靶向 Bcr-Abl)、曲妥珠单抗(靶向 Erb2)、吉非替尼 / 易瑞沙(靶向 EGFR)、雷珠单抗(靶向 VEGF)、培加尼布(靶向 VEGF)、厄洛替尼 / 特罗凯(靶向 Erb1)、尼洛替尼(靶向 Bcr-Abl)、拉帕替尼(靶向 Erb1 和 Erb2/Her2)、GW-572016/二甲苯磺酸拉帕替尼(靶向 HER2/Erb2)、帕木单抗 / 维克替比(靶向 EGFR)、凡德他尼(Vandetinib)(靶向 RET/VEGFR)、E7080(多重靶包括 RET 和 VEGFR)、赫赛汀(靶向 HER2/Erb2)、PKI-166(靶向 EGFR)、卡奈替尼 / CI-1033(靶向 EGFR)、舒尼替尼 / SU-11464 / 索坦(靶向 EGFR 和 FLT3)、马妥珠单抗 / Emd7200(靶向 EGFR)、EKB-569(靶向 EGFR)、Zd6474(靶向 EGFR 和 VEGFR)、PKC-412(靶向 VEGR 和 FLT3)、伐地拉尼 / Ptk787/ZK222584(靶向 VEGR)、CEP-701(靶向 FLT3)、SU5614(靶向 FLT3)、MLN518(靶向 FLT3)、XL999(靶向 FLT3)、VX-322(靶向 FLT3)、Azd0530(靶向 SRC)、BMS-354825(靶向 SRC)、SKI-606(靶向 SRC)、CP-690(靶向 JAK)、AG-490(靶向 JAK)、WHI-P154(靶向 JAK)、WHI-P131(靶向 JAK)、索拉非尼(Sorafinib)/Nexavar(靶向 RA 激酶、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、PDGFR-β、KIT、FLT-3 和 RET)、达沙替尼 / 扑瑞赛(Sprycel)(BCR/ABL 和 Src)、AC-220(靶向 Flt3)、AC-480(靶向所有 HER 蛋白质，“panHER”)、二磷酸莫替沙尼(靶向 VEGF1-3, PDGFR 和 c-kit)、地诺单抗(靶向 RANKL, 抑制 SRC)、AMG888(靶向 HER3) 和 AP24534(多重靶包括 Flt3)。

[0160] 示例性丝氨酸 / 苏氨酸激酶包括但不限于雷帕鸣(靶向 mTOR/FRAP1)、Deforolimus(靶向 mTOR)、Certican/依维莫司(靶向 mTOR/FRAP1)、AP23573(靶向 mTOR/FRAP1)、依立卢 / 盐酸法舒地尔(靶向 RHO)、夫拉平度(靶向 CDK)、Seliciclib/CYC202/Roscovitrine(靶向 CDK)、SNS-032/BMS-387032(靶向 CDK)、Ruboxistaurin(靶向 PKC)、Pkc412(靶向 PKC)、苔藓抑素(靶向 PKC)、KAI-9803(靶向 PKC)、SF1126(靶向 PI3K)、VX-680(靶向 Aurora 激酶)、Azd1152(靶向 Aurora 激酶)、Arry-142886/AZD-6244(靶向 MAP/MEK)、SCIO-469(靶向 MAP/MEK)、GW681323(靶向 MAP/MEK)、CC-401(靶向 JNK)、CEP-1347(靶向 JNK) 和 PD 332991(靶向 CDK)。

[0161] 优选组合疗法包括但不限于与厄洛替尼组合施用的(a)具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮，和药学可接受的载体；(b) (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 噻吩-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的 1 型多晶型物，其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 8.2、

10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂; 或 (c) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂, 与吉西他滨组合施用的 (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 和药学可接受的载体; (b) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂; 或 (c) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂, 和与索拉非尼组合施用的 (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 和药学可接受的载体; (b) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂; 或 (c) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。在特定实施方案中, 受试者或患者接受与作为每天两次 360 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 作为每天一次 150 mg 施用的厄洛替尼的组合。在其他实施方案中, 受试者或患者接受与作为通过口每天两次 360 mg 或通过口连续每天两次 120 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 通过每周一次经过 30 分钟的 1000 mg/m² 静脉内输注施用的吉西他滨的组合。在另一个实施方案中, 受试者或患者接受与作为每天两次 360 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 作为每天两次 200 mg 施用的索拉非尼的组合。用于 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的优选剂型包括但不限于胶囊和片剂。

[0162] 药物组合物

本发明还提供了包含下述的药物组合物: (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 和药学可接受的载体; (b) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂; 或 (c) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂, 和与索拉非尼组合施用的 (a) 具有如通过 HPLC 测定的超过 99% 的手性纯度且含有小于 1% (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮, 和药学可接受的载体; (b) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 8.2、10.8 和 14.1 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂; 或 (c) (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物, 其特征在于使用 Cu Kα 辐射在约 6.5、9.9 和 12.0 ° 2θ 处包含峰的 X 射线粉末衍射图, 和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。在特定实施方案中, 受试者或患者接受与作为每天两次 360 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 作为每天一次 150 mg 施用的厄洛替尼的组合。在其他实施方案中, 受试者或患者接受与作为通过口每天两次 360 mg 或通过口连续每天两次 120 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 通过每周一次经过 30 分钟的 1000 mg/m² 静脉内输注施用的吉西他滨的组合。在另一个实施方案中, 受试者或患者接受与作为每天两次 360 mg 施用的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮组合的, 作为每天两次 200 mg 施用的索拉非尼的组合。用于 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的优选剂型包括但不限于胶囊和片剂。

吡咯烷-2,5-二酮的1型多晶型物，其特征在于使用Cu K α 辐射在约8.2、10.8和14.1° 2θ 处包含峰的X射线粉末衍射图，和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂；或(c) (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的2型多晶型物，其特征在于使用Cu K α 辐射在约6.5、9.9和12.0° 2θ 处包含峰的X射线粉末衍射图，和一种或多种药学可接受的载体或赋形剂。

[0163] “药物组合物”是含有为适合于施用于受试者的形式的本发明化合物的制剂。在一个实施方案中，药物组合物是总体或单位剂量型。单位剂量型是多种形式中的任何，包括例如胶囊、IV袋、片剂、在气溶胶吸入器上的单泵或小瓶。在组合物的单位剂量中活性成分（例如所公开化合物或其盐、水合物、溶剂化物或异构体的制剂）的数量是有效量，并且根据涉及的特定治疗而改变。本领域技术人员应当理解，取决于患者的年龄和状况，有时需要对剂量作出常规变动。剂量还将取决于施用途径。考虑了多种途径，包括口服、肺、直肠、肠胃外、经皮、皮下、静脉内、肌内、腹膜内、吸入、含服(buccal)、舌下、胸膜内、鞘内、鼻内等。用于本发明的化合物的局部或经皮施用的剂型包括粉末、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴剂和吸入剂。在一个实施方案中，活性化合物在无菌条件下与药学可接受的载体和需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

[0164] 如本文使用的，短语“药学可接受的”指这样的化合物、材料、组合物、载体和/或剂型，其在合理医学判断范围内，适合于与人类和动物的组织接触使用，而无过量毒性、刺激、变应性应答或其他问题或并发症，与合理利益/风险比相称。

[0165] “药学可接受的赋形剂”意指在制备药物组合物中有用的赋形剂，其一般是安全、无毒以及不是生物学或其他方面不希望的，并且包括对于兽医学用途以及人药物用途合适的赋形剂。如在说明书和权利要求中使用的“药学可接受的赋形剂”包括一种和超过一种此类赋形剂。

[0166] 本发明的药物组合物配制为与其预期施用途径相容。施用途径的例子包括肠胃外（例如静脉内、皮内、皮下）、口服（例如吸入）、经皮（局部）和经粘膜施用。用于肠胃外、真皮内或皮下应用的溶液或悬液可以包括下述组分：无菌稀释剂例如注射用水、盐水溶液、不挥发性油、聚乙二醇、丙三醇、丙二醇或其他合成溶剂；抗菌剂例如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂例如乙二胺四乙酸；缓冲剂例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐，和用于张力调整的试剂例如氯化钠或右旋糖。pH可以用酸或碱例如盐酸或氢氧化钠进行调整。肠胃外制备物可以封入由玻璃或塑料制成的安瓿、一次性注射器或多剂量小瓶中。

[0167] 本发明的化合物或药物组合物可以以目前用于化学治疗处理的许多众所周知方法施用于受试者。例如，对于癌症的治疗，本发明的化合物可以直接注射到肿瘤内，注射到血流或体腔内或口服或用贴剂通过皮肤应用。所选剂量应足以构成有效处理，但不如此高以至于引起无法接受的副作用。应优选在治疗过程中和治疗后的合理时期紧密监控疾病状况（例如癌症、初癌等）的状态和患者的健康。

[0168] 如本文使用的，术语“治疗有效量”指治疗、改善或预防鉴定的疾病或状况，或显示出可检测的治疗或抑制效应的药学试剂的量。效应可以通过本领域已知的任何测定方法进行检测。用于受试者的精确有效量将取决于受试者的体重、大小和健康；状况的性质和程度；和选择用于施用的治疗学或治疗学的组合。用于给定情况的治疗有效量可以通过在临

床医生的技术和判断内的例行实验进行测定。在一个优选方面,待治疗的疾病或状况是癌症。在另一个方面,待治疗的疾病或状况是细胞增殖性病症。

[0169] 对于任何化合物,治疗有效量可以最初在例如赘生性细胞的细胞培养测定中或在动物模型中进行评价,所述动物模型通常为大鼠、小鼠、兔、犬或猪。动物模型还可以用于测定合适浓度范围和施用途径。此类信息随后可以用于测定对于在人中施用有用的剂量和途径。治疗 / 预防功效和毒性可以通过细胞培养或实验动物中的标准药学程序进行测定,例如 ED₅₀ (在 50% 群体中治疗上有效的剂量) 和 LD₅₀ (对于 50% 群体致死的剂量)。在毒性和治疗效应之间的剂量比是治疗指数,并且它可以表示为比, LD₅₀/ED₅₀。显示出大治疗指数的药物组合物是优选的。剂量可以在这个范围内改变,这取决于采用的剂型、患者的敏感性和施用途径。

[0170] 调整剂量和施用,以提供一种或多种活性剂的足够水平,或维持所需效应。可以加以考虑的因素包括疾病状态的严重性,受试者的一般健康,受试者的年龄、重量和性别,饮食,施用时间和频率,一种或多种药物组合,反应灵敏度,和对疗法的耐受 / 应答。长效药物组合物可以每天、每 3 - 4 天、每周或每两周施用一次,取决于特定制剂的半衰期和清除率。

[0171] 含有本发明的活性化合物的药物组合物可以以一般已知的方式进行制造,例如借助于常规混合、溶解、粒化、糖锭制备、水磨、乳化、包封、夹陷或冻干过程。药物组合物可以以常规方式进行配制,其使用一种或多种药学可接受的载体,包括赋形剂和 / 或辅助试剂,其促进活性化合物加工成可以药学使用的制备物。当然,合适制剂取决于所选施用途径。

[0172] 适合于可注射使用的药物组合物包括无菌水溶液或分散体和用于临时制备无菌可注射溶液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用,合适载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™(BASF, Parsippany, N. J.) 或磷酸盐缓冲盐水 (PBS)。在所有情况下,组合物必须是无菌的且应流动至存在可容易注射性的程度。它在制造和贮存条件下必须是稳定的,并且必须针对微生物例如细菌和真菌的污染作用进行保存。载体可以是溶剂或分散介质,含有例如水、乙醇、多元醇 (例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等) 及其合适混合物。合适流动性可以例如通过下述得到维持,使用包衣例如卵磷脂,在分散体的情况下维持所需粒子大小,和使用表面活性剂。微生物作用的预防可以通过多种抗菌剂和抗真菌剂来达到,例如对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等。在许多情况下,将优选在组合物中包括等渗剂,例如糖,多元醇例如甘露醇、山梨糖醇和 / 或氯化钠。可注射组合物的延长吸收可以通过在组合物中包括延迟吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶来达到。

[0173] 无菌可注射溶液可以通过下述进行制备:将活性化合物以所需量与上文列举成分之一或组合按需要一起掺入合适溶剂中,随后为过滤灭菌。一般地,分散体通过将活性化合物掺入无菌载体内进行制备,所述无菌载体含有基本分散介质和来自上文列举那些的所需其他成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,制备方法是真空干燥和冷冻干燥,其获得来自其先前无菌过滤溶液的活性成分加上任何另外所需成分的粉末。

[0174] 口服组合物一般包括惰性稀释剂或可食用的药学可接受的载体。它们可以封入明胶胶囊中或压缩成片剂。为了口服治疗施用的目的,活性化合物可以与赋形剂一起掺入,且以片剂、锭剂或胶囊的形式使用。口服组合物还可以使用液态载体进行制备用于作为漱口药使用,其中在液态载体中的化合物口服应用且漱口 (swished) 且吐出或吞咽。可以包括

药学相容的结合剂和 / 或佐剂材料作为组合物的部分。片剂、丸剂、胶囊、锭剂等可以含有下述成分中的任何或相似性质的化合物 :粘合剂例如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶 ;赋形剂例如淀粉、预胶化淀粉或乳糖,崩解剂例如交联羧甲纤维素钠、淀粉羟乙酸钠、羧甲基淀粉钠、海藻酸、Primogel、交联聚维酮或玉米淀粉 ;润滑剂例如硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂酰富马酸钠或 Sterotes ;助流剂例如胶体二氧化硅 ;甜味剂例如蔗糖或糖精 ;或矫味剂例如薄荷、水杨酸甲酯或橙矫味料。

[0175] 对于通过吸入的施用,化合物以来自增压容器或分配器或喷雾器的气溶胶喷雾的形式递送,所述增压容器或分配器含有合适推进剂例如氢氟烷、含氯氟烃、二氧化碳。

[0176] 全身施用还可以是通过经粘膜或经皮方式。对于经粘膜或经皮施用,对待穿透的屏障合适的穿透剂用于制剂中。此类穿透剂是本领域一般已知的,并且对于经粘膜施用包括例如去垢剂、胆汁盐和梭链孢酸衍生物。经粘膜施用可以通过使用鼻喷雾剂或栓剂来完成。对于经皮施用,活性化合物配制成如本领域一般已知的软膏、药膏、明胶或乳膏。

[0177] 活性化合物可以用药学可接受的载体进行制备,其将保护化合物不受从体内的快速消除,例如控制释放制剂,包括埋植剂和微胶囊化的递送系统。可以使用生物可降解、生物相容的聚合物,例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酐、聚羟乙酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸或聚酯的混合物或共聚物。用于制备此类制剂的方法对于本领域技术人员将是显而易见的。材料还可以在商业上得自 Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc。脂质体悬液(包括具有针对病毒抗原的单克隆抗体靶向受感染细胞的脂质体)也可以用作药学可接受的载体。这些可以根据本领域技术人员已知的方法进行制备,例如如美国专利号 4,522,811 中描述的。

[0178] 以剂量单位形式配制口服或肠胃外组合物是尤其有利的,用于容易施用和剂量的一致性。如本文使用的剂量单位形式指作为用于待治疗的受试者的单位剂量合适的物理上不连续的单位;每个单位含有计算为产生与所需药学载体相关的所需疗效的预定数量的活性化合物。用于本发明的剂量单位形式的规格由活性化合物的独特特征和待达到的特定疗效指示且直接取决于它们。

[0179] 在治疗应用中,取决于试剂,接受患者的年龄、重量和临床状况,和施用治疗的临床医生或从业者的经验和判断和影响所需剂量的其他因素,依照本发明使用的药物组合物的剂量改变。一般地,剂量应足以导致减慢且优选倒退肿瘤的生长,且还优选促使癌症的完全消退。剂量可以范围为约 0.01 mg/kg/ 天 - 约 5000 mg/kg/ 天。在优选方面,剂量可以范围为约 1 mg/kg/ 天 - 约 1000 mg/kg/ 天。在一个方面,剂量将在约 0.1 mg/ 天 - 约 50 g/ 天的范围内;约 0.1 mg/ 天 - 约 25 g/ 天;约 0.1 mg/ 天 - 约 10 g/ 天;约 0.1 mg - 约 3g/ 天;或约 0.1 mg - 约 1 g/ 天,在单一、分份或连续剂量中(所述剂量可以对于以 kg 表示的患者重量、以 m² 表示的体表面积和以岁表示的年龄进行调整)。在优选应用中,剂量可以是每天两次(b. i. d.) 约 400 毫克。在特定应用中,剂量是每天两次(b. i. d.) 360 毫克(mg)。更优选地,剂型是胶囊或片剂且作为 2 个或 3 个胶囊或片剂施用,具有 360 毫克(mg) 的组合剂量。这个剂型每天施用两次,共 720 毫克(mg) 的总剂量。药物试剂的有效量是提供如由临床医生或其他合格观察者注意到的可客观鉴定改善的那种。例如,在患者中肿瘤的消退可以就肿瘤的直径而言进行测量。肿瘤的直径中的减少指示消退。消退还通过在治疗已停止后缺乏复发的肿瘤进行指示。如本文使用的,术语“剂量有效方式”指在受试者或

细胞中产生所需生物学效应的活性化合物的量。

[0180] 药物组合物可以连同关于施用的说明书一起包括在容器、包装或分配器中。

[0181] 本发明的化合物能够进一步形成盐。所有这些形式也考虑在本发明的范围内。

[0182] 如本文使用的，“药学可接受的盐”指本发明的化合物的衍生物，其中母体化合物通过制备其酸或碱盐进行修饰。药学可接受的盐的例子包括但不限于碱性残基例如胺的无机或有机酸盐，酸性残基例如羧酸的碱或有机盐等。药学可接受的盐包括例如由无毒无机或有机酸形成的母体化合物的常规无毒盐或季铵盐。例如，此类常规无毒盐包括但不限于衍生自选自下述无机和有机酸的那些：2-乙酰氧基苯甲酸、2-羟乙基磺酸、乙酸、抗坏血酸、苯磺酸、苯甲酸、重碳酸 (bicarbonic acid)、碳酸、柠檬酸、依地酸、乙烷二磺酸、1,2-乙磺酸、富马酸、葡庚糖酸、葡糖酸、谷氨酸、羟乙酸、glycollyarylsanilic、hexylresorcinic、hydrabamic、氢溴酸、盐酸、氢碘酸、羟基马来酸、羟萘甲酸、羟乙磺酸、乳酸、乳糖酸、月桂酰磺酸、马来酸、苹果酸、扁桃酸、甲磺酸、napsylic、硝酸、草酸、扑酸、泛酸、苯乙酸、磷酸、聚半乳糖醛酸、丙酸、水杨酸 (salicyclic)、硬脂酸、subacetic、琥珀酸、氨基磺酸、磺胺酸、硫酸、鞣酸、酒石酸、甲苯磺酸，和目前存在的氨基酸例如甘氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、精氨酸等。

[0183] 药学可接受的盐的其他例子包括己酸、环戊烷丙酸、丙酮酸、丙二酸、3-(4-羟基苯甲酰)苯甲酸、肉桂酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、4-甲基二环-[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、粘康酸等。本发明还包含当母体化合物中存在的酸性质子由金属离子例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子替换时形成的盐，或与有机碱例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨基丁三醇、N-甲基葡萄糖胺等配合时形成的盐。

[0184] 应当理解对于药学可接受的盐的所有提及包括相同盐的如本文定义的溶剂添加形式（溶剂化物）或晶体形式（多晶型物）。

[0185] 本发明的化合物还可以制备为酯，例如药学可接受的酯。例如，化合物中的羧酸官能团可以转化成其相应酯，例如甲酯、乙酯或其他酯。此外，化合物中的醇基团可以转化成其相应酯，例如乙酸酯、丙酸酯或其他酯。

[0186] 本发明的化合物还可以制备为前体药物，例如药学可接受的前体药物。术语“药物前体”和“前体药物”在本文中可互换使用，并且指在体内释放活性母体药物的任何化合物。因为前体药物已知增强药剂的众多所需品质（例如溶解度、生物利用度、制造等），所以本发明的化合物可以以前体药物形式递送。因此，本发明预期覆盖目前请求保护的化合物的前体药物，递送其的方法和包含其的组合物。“前体药物”预期包括任何共价键合的载体，当此类前体药物施用于受试者时，其在体内释放本发明的活性母体药物。本发明中的前体药物通过以这样的方式修饰化合物中存在的官能团进行制备，从而使得修饰以常规操作或在体内切割为母体化合物。前体药物包括本发明的化合物，其中羟基、氨基、巯基、羧基或羰基与任何基团键合，所述任何基团可以在体内切割，以分别形成游离羟基、游离氨基、游离巯基、游离羧基或游离羰基。

[0187] 前体药物的例子包括但不限于羟基官能团的酯（例如乙酸酯、二烷基氨基乙酸酯、羟基、磷酸酯、硫酸酯和苯甲酸酯衍生物）和氨基甲酸酯（例如 N,N-二甲氨基羰基），羰基官能团的酯（例如乙酯、吗啉乙醇酯），氨基官能团的 N-酰基衍生物（例如 N-乙

酰基)N-Mannich 碱、希夫碱和烯胺酮,本发明的化合物中的酮和醛官能团的肟、缩醛、缩酮和烯醇酯等,参见 Bundgaard, H., *Design of Prodrugs*, 第 1–92 页, Elsevier, New York-Oxford(1985)。

[0188] 化合物或其药学可接受的盐、酯或前体药物口服、鼻、经皮、肺、吸入、经颊、舌下、腹膜内 (intraperitoneally)、皮下、肌内、静脉内、经直肠、胸膜内、鞘内和肠胃外施用。在一个实施方案中,化合物口服施用。本领域技术人员将认识到特定施用途径的优点。

[0189] 利用化合物的剂量方案依照多种因素加以选择,包括患者的类型、物种、年龄、重量、性别和医学状况;待治疗状况的严重性;施用途径;患者的肾和肝功能;和采用的特定化合物或其盐。普通技术的医生或兽医可以容易地测定且开出预防、反抗或阻止状况进展所需的药物的有效量。

[0190] 用于本发明所公开化合物的配制和施用的技术可以在 Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 第 19 版, Mack Publishing Co., Easton, PA(1995) 中找到。在一个实施方案中,本文描述的化合物及其药学可接受的盐与药学可接受的载体或稀释剂组合用于药物制剂中。合适的药学可接受的载体包括惰性固体填充剂或稀释剂和无菌水或有机溶液。化合物以足以提供在本文描述范围中的所需剂量量的量存在于此类药物组合物中。

[0191] 除非另有说明,本文使用的所有百分比和比是按重量计。

[0192] 本发明的其他特点和优点由于不同实施例是显而易见的。所提供的实施例举例说明在实践本发明中有用的不同组分和方法学。实施例并不限制本发明。基于本公开内容,技术人员可以鉴定且采用对于实践本发明有用的其他组分和方法学。

实施例

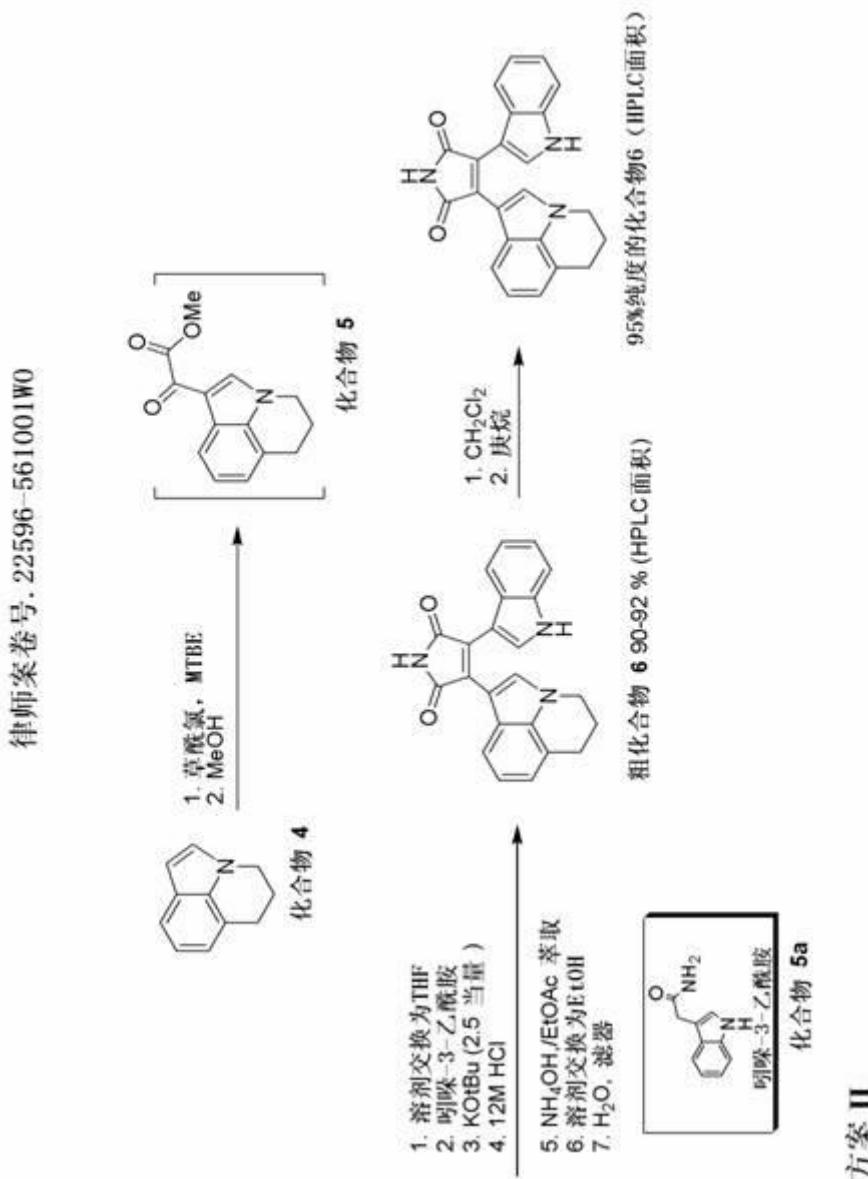
[0193] 实施例 1.

本实施例描述 3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯-2,5-二酮的制备。

[0194] 将四氢吡咯并[1,2,3-i,j] 四氢喹啉 [CAS 102280-97-7] (70 kg) (方案 I 中的化合物 4) 装到适当清洁和干燥的反应器皿中,随后装入甲基叔丁基醚 (MTBE) (375 kg)。四氢吡咯并[1,2,3-i,j] 四氢喹啉可以商业上购买或如美国专利申请公开号 2006/0223760 中所述的制备。将所得到的分批 (batch) 在 5–25°C 搅动最低限度 10 分钟。在分开的器皿中制备草酰氯 (56.6 kg) 的 MTBE (370 kg) 溶液。随后将四氢吡咯并[1,2,3-i,j] 四氢喹啉溶液以这样的速率加入草酰氯溶液中,以维持低于 32°C 的温度。将器皿用另外的 MTBE (162 kg) 清洗,并且加入反应混合物中。在通过 HPLC 分析前,将分批在 15–32°C 搅拌最低限度 2 小时。当反应测定为完全时,将甲醇 (90 kg) 加入,并且将分批搅拌最低限度 2 小时。当反应通过 HPLC 分析测定为完全时,将分批蒸馏至约 80 加仑。不需要分离中间体 5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-i,j] 喹啉-1-基) 氧代乙酸甲酯 (方案 I 中的化合物 5)。将四氢呋喃 (THF) (840 kg) 加入分批中,并且将体积通过蒸馏再次减少至约 80 加仑。这个溶剂交换过程继续直至分批中存在的 MTBE 量按重量计 <1%。将新器皿装入吲哚-3-乙酰胺 [CAS 879-37-8] (61.3 kg) (方案 I 中的化合物 5a),随后装入 THF (840 kg)。随后将所得到的溶液以这样的速率装到分批中,从而使得温度维持在 15–25°C。将含有吲哚-3-乙酰胺溶液

的器皿用 THF(140 kg) 清洗，并且将清洗液加入分批中。随后将空器皿装入叔丁醇钾溶液（在 THF 中 1.6 M, 581 kg）和 THF(350 kg)。还将溶液加入分批中，并且将所得到的溶液在 20–32°C 搅拌最低限度 3 小时。当原材料如通过 HPLC 分析证实的已消耗时，将水性 HCl（浓缩的，273 kg）以这样的速率加入，从而使得温度维持低于 50°C。将分批在 40–50°C 搅拌最低限度 30 分钟。

[0195] 当反应已通过 HPLC 分析测定为完全时，将水性氢氧化铵溶液（浓缩的）加入，同时维持反应温度低于 40°C，直至混合物的 pH 是 9–10。在乙酸乙酯 (EtOAc) (462 kg) 添加和分批搅动后，将层分离。将有机层用盐水 (182 kg NaCl 和 1022 kg 水) 洗涤。将所得到的有机溶液蒸馏至起始体积的约三分之一。将乙醇 (2B, 1120 kg) 加入，并且继续蒸馏以将分批体积减少至约 240 加仑。再次将乙醇 (2B, 1120 kg) 加入，并且将体积减少至 240 加仑。随后将水 (1400 kg) 加入分批中，以诱导产物的沉淀。将分批搅动最低限度 2 小时，并且将固体通过过滤分离。随后将固体吸收到二氯甲烷 (DCM) (840 kg) 中，并且将庚烷 (442 kg) 加入，以纯化产物。在分批搅动至少 2 小时后，将产物通过过滤分离。在滤器上调理 (conditioning) 后，分离作为红色粉末的约 115 kg (88%) 3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*ij*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯-2,5-二酮（方案 I 中的化合物 6）。化合物 4 至化合物 6 的转化显示于方案 II 中。



[0196] 实施例 2.

本实施例描述 (±)-反式 -3-(5,6-二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的制备。

[0197] 将氢氧化钯 (在碳上 20 重量 % Pd, 11.5 kg) 装到适当制备的反应器皿中。将 THF (340 kg) 加入, 以产生浆, 并且将催化剂用氢 (50-75 psi) 预还原。将化合物 6 (115 kg) 装到空器皿中, 随后装入 THF (353 kg)。将所得到的混合物搅拌直至溶解完成。随后将化合物 6 的溶液转移至催化剂的浆。将叔丁醇钾溶液 (在 THF 中 1.6 M, 36 kg) 装到空反应器中, 随后装入 THF (21 kg)。还将这种所得到的溶液转移至反应混合物, 随后用 THF (340 kg) 另外清洗。随后将分批在 65-80 psi 的氢气下加热至 45-55°C。不需要分离中间体顺式外消旋物 (±)-顺式 -3-(5,6-二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-i,j] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮 (方案 I 中的化合物 7)。

[0198] 当反应通过 HPLC 分析测定为完全时, 将分批通过硅藻土过滤, 以去除催化剂, 且用乙酸异丙酯 (*i*PrOAc) (810 kg) 稀释。将有机溶液用水性 HCl (28 kg 浓缩 HCl, 290 kg 水) 洗涤。将这个过程重复第二次。随后在通过蒸馏浓缩至约 300 加仑后, 将有机溶液

用盐水 (580 kg) 洗涤。将 *i*PrOAc (1690 kg) 加入，并且将分批蒸馏至约 400 加仑。通过加入 *i*PrOAc (1000 kg) 重复蒸馏过程，直至溶液中的 THF 含量按重量计 <2%。随后将庚烷 (2000 kg) 加入，以诱导产物的沉淀。通过过滤分离粗 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 (方案 I 中的化合物 8)，且浓缩以提供具有~96% 的 HPLC 纯度的 111 kg (95%)。这种材料还含有 1.7% *i*PrOAc 和 6.3% 庚烷。这种材料通过实验室规模的“用途”测试证实为具有足够纯度，以进行至 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮二氯甲烷 (DCM) 的制备和通过多柱层析 (MCC) 的拆分或用于在非对映体盐的结晶中直接使用，如下述实施例中进一步详细描述的。

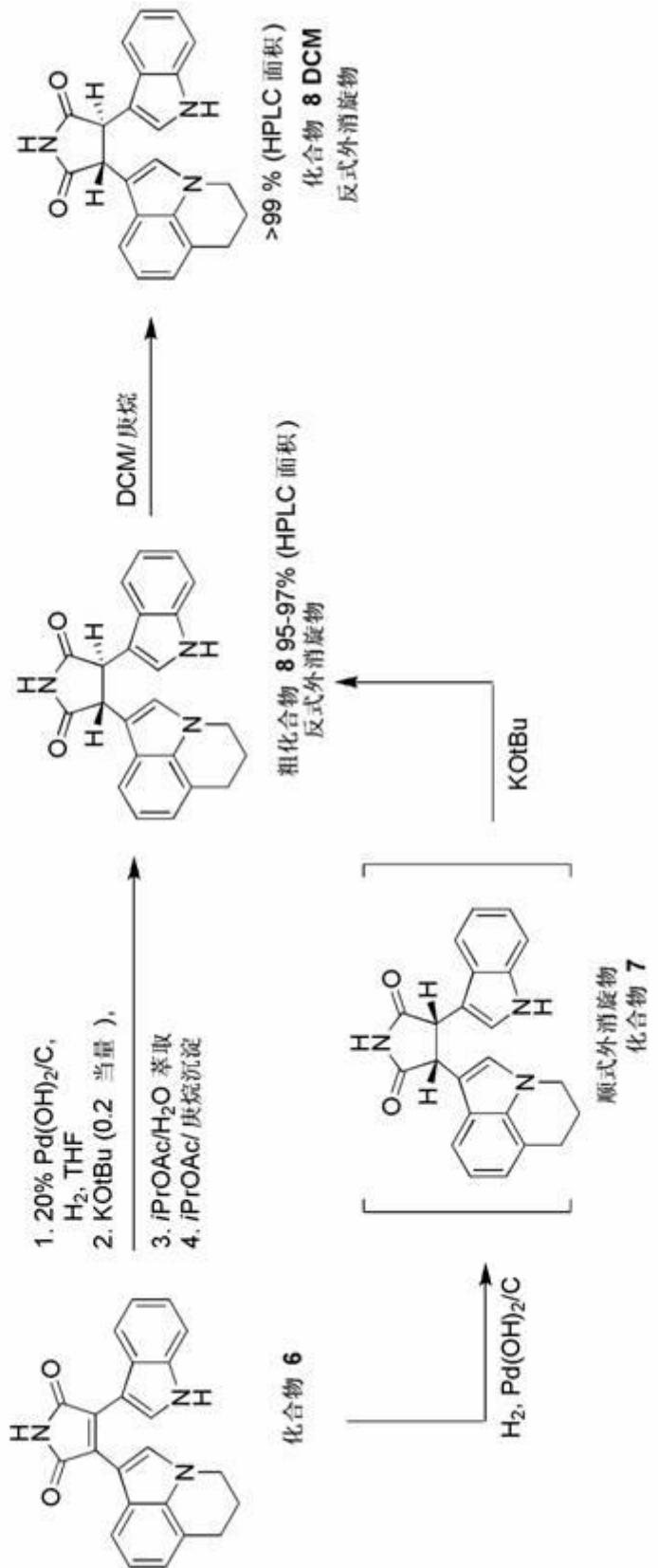
[0199] 实施例 3.

本实施例描述 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 DCM 的制备。

[0200] 优选在通过 MCC 的对映体拆分过程前，通过结晶 (±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 DCM (方案 I 中的化合物 8 DCM) 的产生化学纯化化合物 8。

[0201] 在一个例子中，将反应器皿装入甲醇 (125 kg) 和化合物 8 (52.5 kg)，并且将所得到的混合物加热至 55–65°C。将 DCM (557 kg) 装到干净的反应器中。随后通过在线滤器 (inline filter) 将化合物 8 的溶液转移至含有 DCM 的反应器。将反应器用 DCM (134 kg) 清洗，这也通过滤器转移至含有反应混合物的反应器。在引入化合物 8 DCM 种子 (0.1 kg) 前，将分批搅动最低限度 30 分钟。将分批搅拌至少 4 小时，并且随后取样以评价结晶程度。当化合物 8 的滤液浓度低于 65 mg/mL 时，将庚烷 (718 kg) 加入，并且将分批搅拌至少 1 小时。随后将分批冷却至 0–5°C，并且将产物通过过滤分离。将固体在滤器上调理 (conditioning)，并且在真空盘架干燥器中在 45–55°C 干燥至少 4 小时。分离作为棕褐色固体的化合物 8 DCM (48.3 kg, 92%, HPLC 99.0%)。在实施例 2 和 3 中描述的化合物 6 至化合物 8 DCM 的转化显示于方案 III 中。

律师案卷号: 22596-561001WO



[0202] 实施例 4.

本实施例描述 (\pm)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 DCM 通过 MCC 的手性拆分, 和 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯

烷-2,5-二酮的分离。

[0203] 通过将化合物 8 DCM 溶解于甲醇中制备用于多柱层析 (MCC) 的进料溶液。将所得到的 DCM/ 甲醇共溶剂蒸馏，直至进料溶液中 DCM 的残留水平达到对于与手性固定相 (CSP) 接触可接受的水平，即按重量计 < 0.1%。将分批在甲醇 / 乙腈 (9:1) 的混合物中稀释至 50 mg/mL 的浓度，且引入层析系统。可以利用 Chiraldak AZ(CSP)。通过手性 HPLC 分析监控萃余液，并且将层析参数调整，以获得 >99% 手性纯度的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻吩 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 (方案 I 中的化合物 10)。将萃余液合并且随着分离进行而分批式浓缩。将收集的萃余液加入更大的反应器中，并且减少体积。随后通过结晶分离化合物 10。

[0204] 实施例 5.

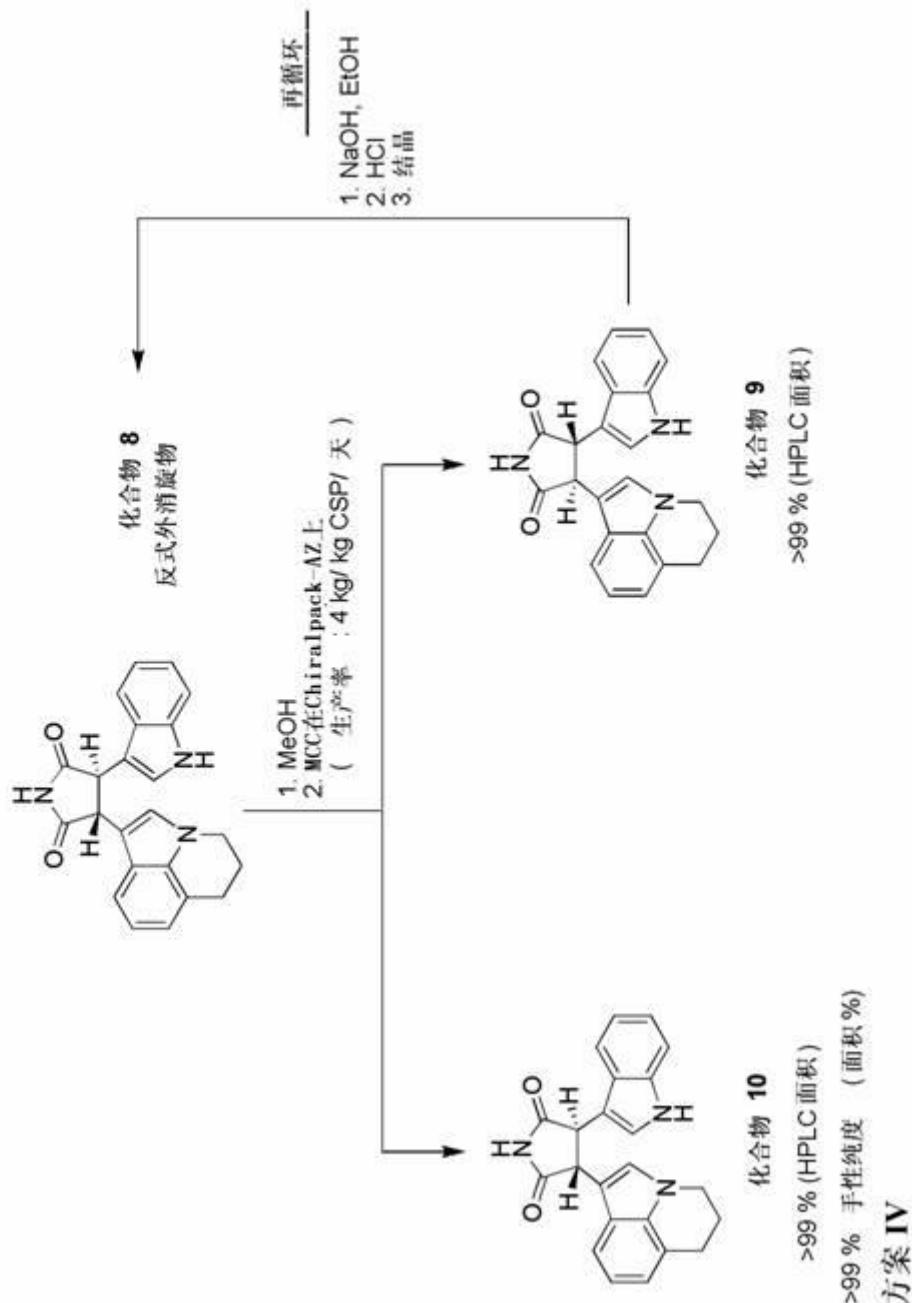
本实施例描述由不希望有的对映体 (+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻吩 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮分批式生成 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻吩 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮。

[0205] 在某些情况下，例如当使用 MCC 实现拆分时，希望以分批式方式分离且外消旋化不希望有的对映体，(+)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻吩 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 (方案 I 中的化合物 9)。

[0206] 在由分离的化合物 9 生成粗化合物 8 的过程的一个例子中，将不希望有的对映体 (6.46 kg) 装到 100-L 反应器中。将乙醇 (60 L) 装入，随后为固体 NaOH (1.05 kg, 1.5 当量) 的添加。将所得到的浆加热至 65°C 共 13 小时，并且随后允许经过 4 小时冷却至环境温度。将混合物取样且通过手性 HPLC 分析，显示对映体的 54/46 比。化学纯度通过 HPLC 测定为 94.6% (AUC)。随后将浆通过硅藻土精密过滤，并且将滤垫 (pad) 用乙醇 (13 L) 清洗。去除的材料是不具有大块的固体的褐色膜。将溶液再装到 100-L 反应器中，并且经过 35 分钟将 2 M HCl (13.1 L, 1.5 当量) 加入。在添加过程中，形成稀浆。随后将混合物在环境温度搅拌 (在 5 小时后，获得稠的淡橙色浆)。随后经过 45 分钟将水 (25 L) 加入，并且将混合物搅拌 2 小时。将等分试样取出且过滤。随后将分批加热至 60°C 且搅拌 8 小时，且随后使其缓慢冷却，以改善固体的过滤性质。分离通过 HPLC 具有 99.39% (AUC) 化学纯度的粗化合物 8 [5.12 kg, 75.7% (占 4.5 重量 % 乙醇)]。在这种情况下，该纯度足以通过 MCC 进一步加工这种材料。如果需要的话，纯度可以通过 DCM 的形成得到增强。

[0207] 在实施例 4 中描述的化合物 8 DCM 至化合物 10 的手性拆分和在实施例 5 中描述的化合物 9 至化合物 8 的再循环显示于方案 IV 中。

律师案卷号: 22596-561001WO



[0208] 实施例 6.

本实施例描述通过非对映体盐形成的手性拆分和 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的分离。

[0209] 作为通过 MCC 的手性拆分的替代方案, 对映体化合物 10 和化合物 9 的拆分还可以通过化合物 10 的非对映体盐的优先形成来达到。

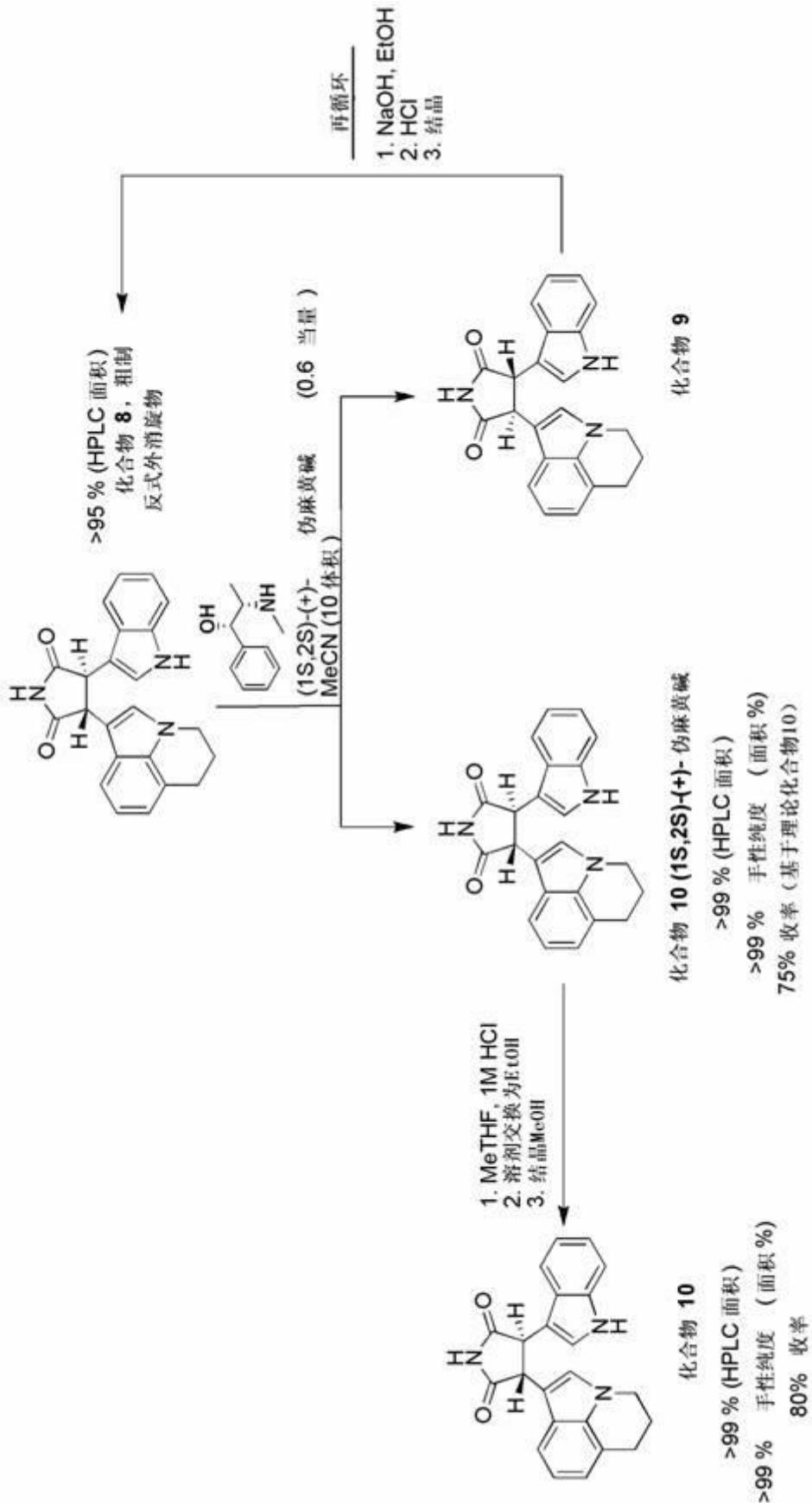
[0210] 在一个例子中, 使用下述代表性程序, 粗化合物 8 可以转化为 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 喹啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮 • (1S,2S)-(-)- 伪麻黄碱 (方案 I 中的化合物 10 • (1S,2S)-(-)- 伪麻黄碱)。将 (1S,2S)-(-)- 伪麻黄碱 (601 g, 0.6 当量) 在约 50°C 溶解于乙腈 (CH₃CN) (11.2 L, 5 体积) 中, 并且在溶解后搅拌约 30 分钟。将粗化合物 8 [2.24 kg, 通过 HPLC 96.4% (AUC)] 在约 50°C 溶解于 CH₃CN (11.2 L, 5 体积) 中, 并且随后通过硅藻土垫精密过滤。在约 50°C 经过

20–30 分钟, 将化合物 8 溶液经由滴落槽 (drop tank) 加入 ($1S, 2S$)–(+)–伪麻黄碱溶液中。一旦所得到的溶液开始结晶, 在化合物 8 添加完成后不久, 就将混合物搅拌直至它缓慢冷却至环境温度, 随后继续搅拌过夜 (总共约 11 小时的冷却和搅拌)。将米色颗粒状固体通过 18”不锈钢 nutche 滤器过滤, 且使用 CH_3CN (7 L, 3.2 体积) 清洗 / 再成浆 (reslurried)。将浆过滤, 并且将固体再次用 CH_3CN (5 L, 2.3 体积) 成浆。在 nutche 滤器上干燥 1 小时后, 通过 HPLC 分析样品。如果固体含有高于所需量的不希望有的非对映体盐, 那么固体可以使用 CH_3CN 再成浆, 并且在重复分析前干燥。随后将固体在热 N_2 (51°C) 下干燥过夜。一般地, 化合物 10 • ($1S, 2S$)–(+)–伪麻黄碱的分析显示化合物 10 通过 HPLC > 99% (AUC) 的总体化学纯度和 > 99% 的手性纯度。使用 ^1H NMR 分析, 典型样品估计为含有 < 0.5 重量 % CH_3CN 。

[0211] 化合物 10 • ($1S, 2S$)–(+)–伪麻黄碱随后可以通过用酸处理和由甲醇或乙醇结晶转化为化合物 10。代表性程序如下: 将化合物 10 • ($1S, 2S$)–(+)–伪麻黄碱 (50 g) 在甲基四氢呋喃 (MeTHF) (500 mL) 和水 (250 mL) 中成浆。将 1 M HCl (110 mL) 加入混合物中, 以达到最终 pH 1.6。将具有轻微量固体的所得到的溶液搅拌约 1 小时, 以溶解固体。随后将有机层和水层分离。将有机层用水 / 盐水溶液 (1:1, 250 mL) 洗涤, 分离且加入 2-B 乙醇 (1000 mL)。随后将溶液浓缩直到 200 mL 且分析 MeTHF 含量 (4.8 重量 %)。将溶液精密过滤, 并且将化合物 10 种子 (0.2 g) 加入 ($T = 25^\circ\text{C}$)。将混合物搅拌约 3 天, 其中定期取得样品且分析母液中剩余的化合物 10。将所得到的浆过滤, 并且将固体用 2-B 乙醇 (70 mL) 洗涤。将固体在真空烘箱中在约 60°C 干燥约 3 小时, 以给出作为米色固体的化合物 10 [28.84 g, 82.7%, 通过 HPLC 99.60% (AUC), 0.54 重量 % 乙醇, 0.08 重量 % MeTHF]。

[0212] 在实施例 6 中描述的化合物 8 至化合物 10 的非对映体盐拆分和在实施例 5 中描述的化合物 9 至化合物 8 的再循环显示于方案 V 中。

律师案卷号: 222596-561001WO



[0213] 实施例 7.

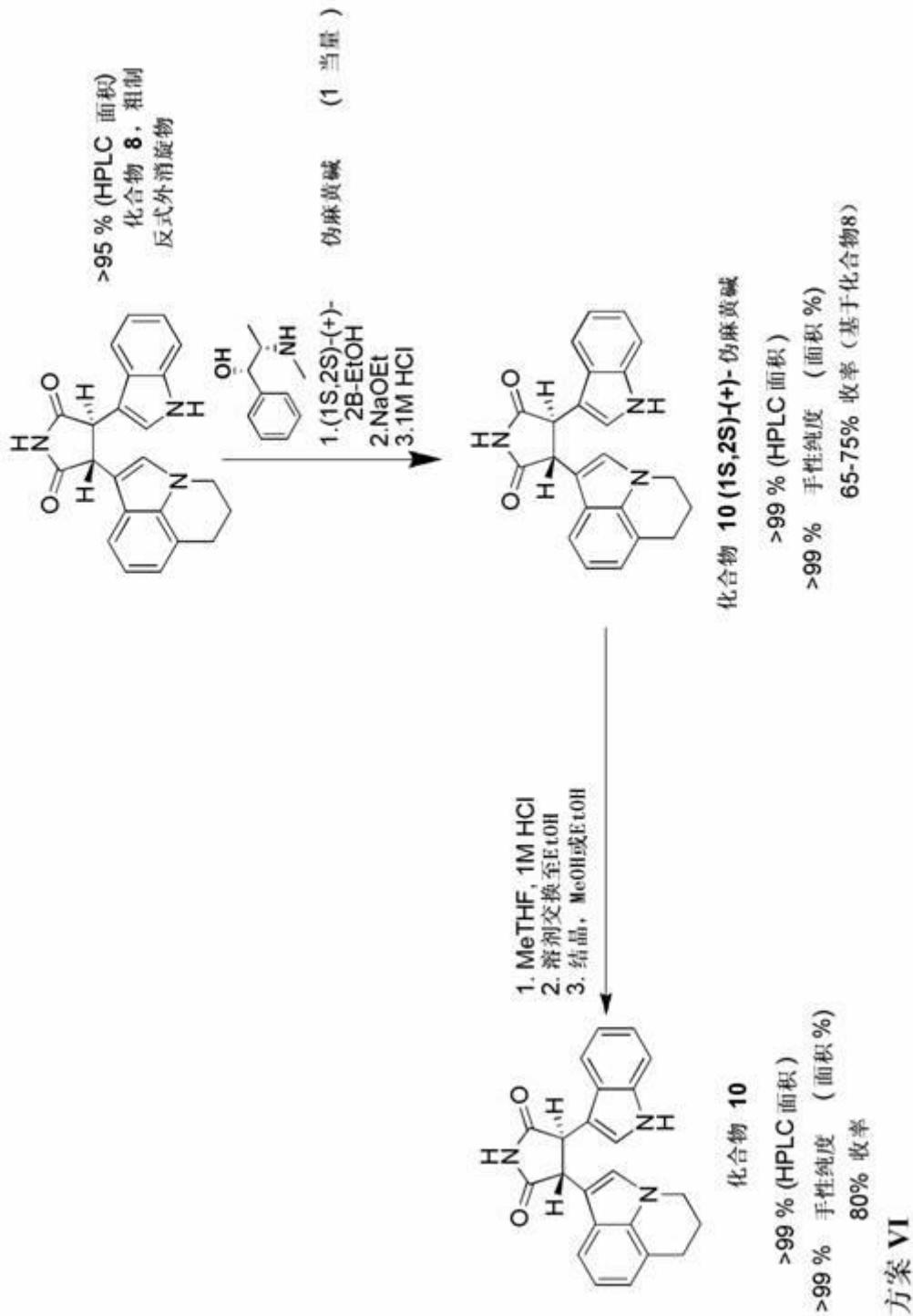
本实施例描述通过动态动力学拆分 (DKR) 的手性分离。

[0214] 作为通过 MCC 的手性拆分或通过非对映体盐形成的常规动力学拆分的替代方案，对映体化合物 10 和化合物 9 的动态动力学拆分 (DKR) 还可以通过化合物 10 的非对映体盐的优先形成来达到，伴随化合物 9 的同时原位外消旋化。

[0215] 在这个过程中，使用下述代表性程序，粗化合物 8 可以转化为化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+)-伪麻黄碱。将粗化合物 8(1.25 kg, 96% AUC, 9.1 重量 % 溶剂含量) 和 (1*S*, 2*S*)-(+)-伪麻黄碱 (559 g, 1.0 当量) 在 2B-乙醇 (11.25 L, 9 体积) 中成浆，并且加热至 50°C 3 小时。将浆用 21 重量 % NaOEt 的甲醇或乙醇 (110 g, 0.1 当量) 溶液处理，并且加热至 50°C。在 40 小时后，通过经过 5 分钟加入 1 M HCl (338 mL, 0.1 当量) 的水溶液 (786 mL, 相对于乙醇~10% 水) 猥灭混合物。将混合物在 50°C 搅拌 1 小时，且随后使其经过 0.5 小时冷却至环境温度。将浆在环境温度搅拌另外 3 小时，且随后过滤。将固体用 10% 水 / 2B-乙醇 (3.75 L, 3 体积) 洗涤，且在真空烘箱 (50°C, 2 个托盘) 中干燥 18 小时。将固体分析且显示化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+)-伪麻黄碱 [1.22 Kg, 通过 HPLC 74%、99.3% (AUC)，通过手性 HPLC 99.2% (AUC)]。将这个过程对 20 kg 化合物 8 执行，以提供化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+)-伪麻黄碱 [18.9 kg, 通过 HPLC 70%、%、98.8% (AUC)，通过手性 HPLC 99.1% (AUC)]。

[0216] 经由化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+)-伪麻黄碱的化合物 8 至化合物 10 的动态动力学拆分显示于方案 VI 中。

律师案卷号: 22596-561001WO



[0217] 实施例 8.

本实施例描述通过动态动力学拆分 (DKR) 的手性分离。

[0218] 作为通过 MCC 的手性拆分或通过非对映体盐形成的常规动力学拆分的替代方案，对映体化合物 10 和化合物 9 的动态动力学拆分 (DKR) 还可以通过化合物 10 的非对映体盐的优先形成来达到，伴随化合物 9 的同时原位外消旋化。

[0219] 在这个过程中，将粗化合物 8(111.4 kg)、Pd 清除树脂 (PL-TMT-MP, 3.5 kg) 和甲醇 (1507 L) 加入容器中，且加热至 45°C 至少 16 小时。在反应完成后，将混合物过滤，以去除 Pd 清除树脂。将容器用甲醇 (104 L) 清洗。将合并的滤液蒸馏至 ~600 L。将

(1*S*, 2*S*)-(+) - 伪麻黄碱 (51.4 kg) 和甲醇 (416 L) 加入滤液中。将所得到的溶液在 45°C 加热 3-4 小时。将固体沉淀且通过 HPLC 分析, 以确保反应是进行性选择的。随后将甲醇钠的甲醇溶液 (21% 重量, 6.1 kg) 加入, 随后加入甲醇 (11 L), 并且将所得到的混合物在 45°C 加热另外 18 小时。通过 HPLC 就结晶的完成分析反应混合物。在结晶完成后, 将反应混合物用 HCl 溶液 (3.5 kg) 处理, 以中和碱。将所得到的混合物冷却至环境温度, 且搅动最低限度 3 小时。随后将固体通过过滤分离, 并且将滤饼用甲醇和水溶液 (分别为 411 L 至 46 L) 洗涤。滤饼是无色 (如果显著颜色在固体中继续存在, 那么重复洗涤, 以去除颜色)。将固体在过滤干燥器中在 55°C 在真空下干燥最低限度 8 小时, 且释放用于在下一个步骤中作为化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+) - 伪麻黄碱 (101 kg) 使用。

[0220] 实施例 9.

本实施例描述制备 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的浆方法。

[0221] 将化合物 10 • (1*S*, 2*S*)-(+) - 伪麻黄碱 (100.7 kg) 以及水性 HCl (1M, 250 kg) 和甲醇 (240 kg) 溶液混合, 并且将所得到的浆加热至 50°C, 并且搅拌至少 2 小时。在反应完成后, 将浆冷却至环境温度, 并且搅拌最低限度 1 小时。将固体通过过滤分离, 用 50% 水性甲醇溶液 (200 L) 洗涤, 并且在真空下在 65°C 干燥至少 6 小时。通过将混合物加热至 50°C, 将粗化合物 10 溶解于 THF (96 kg) 中。将所得到的溶液精密过滤, 随后添加甲醇 (200 kg)。随后将溶液通过蒸馏共沸和常压浓缩, 以减少 THF 含量。一旦溶液的体积减少至 250 L, 就将另外的甲醇 (200 L) 加入, 并且将浓缩过程重复。这个过程重复直至 THF 含量减少至小于 5 % (体积 / 体积)。在甲醇添加过程中, 还引入化合物 10 (300 g) 的一种或多种晶体, 以便促进结晶。将晶体通过过滤分离, 用另外 50% 水性甲醇洗涤, 并且在真空下在 65°C 干燥至少 12 小时。分离作为棕红色固体的粗化合物 10 (60.6 kg)。

[0222] 实施例 10.

本实施例描述制备 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 1 型多晶型物的浆方法。

[0223] 粗化合物 10 如实施例 9 中所述制备。通过将混合物加热至 50°C, 将化合物 10 溶解于 THF (96 kg) 中。将所得到的溶液精密过滤, 随后添加甲醇 (200 kg) 和作为种子的 1 型化合物 10, 以赋予结晶过程的多晶型控制。赋予多晶型控制的种子取自代表性分批, 其中特征数据已证实结晶材料具有所需多晶型形式。随后将溶液通过蒸馏共沸和常压浓缩, 以减少 THF 含量。一旦溶液的体积减少至 250 L, 就将另外的甲醇 (200 L) 加入, 并且将浓缩过程重复。这个过程重复直至 THF 含量减少至小于 5 % (体积 / 体积)。随后将溶液的温度减少至 50°C 且搅拌至少 4 小时。取出等分试样以证实所需多晶型物的形成。如果需要的话, 可以将多晶型物再溶解于 THF (30% 分批体积) 中, 精密过滤, 浓缩且播种, 以获得所需多晶型结果。当获得所需多晶型形式时, 在 50°C 加入 50% 水性甲醇的溶液, 并且将溶液搅动另外 2-3 小时。随后将溶液冷却至环境温度且保持至少 2 小时, 以允许结晶。在完成后, 将晶体通过过滤分离, 用另外 50% 水性甲醇洗涤, 且在真空下在 65°C 干燥至少 12 小时。分离作为棕红色固体的化合物 10 的 1 型多晶型物 (60.6 kg)。

[0224] 如果将 1 型晶种替换为 2 型晶种, 那么 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 喹啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的 2 型多晶型物也可以

用上述方法进行制备。

[0225] 实施例 11.

实施例 11 描述生成 (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的多晶型物的 XRPD 衍射图的方法。

[0226] 使用 Cu K α 辐射 (40kV, 40mA)、 $\theta - \theta$ 测角仪、V20 的散度和接收缝隙、石墨次级单色器和闪烁计数器，在 Siemens D5000 衍射计上收集 X-Ray 粉末衍射图。使用经检验的刚玉标准 (NIST 1976) 检查仪器性能。用于数据收集的软件是 Diffrac Plus XRD Commander v2.3.1，并且数据使用 Diffrac Plus EVA v 11, 0.0.2 或 v 13.0.0.2 进行分析且呈现。

[0227] 将粉末样品制备为平板样品。将约 35 mg 样品轻轻填充到腔内，其切割成抛光的零本底 (510) 硅晶片。将样品在分析过程中以其自身平面旋转。数据收集细节是：

角范围：2 至 42 ° 2θ

步长：0.05 ° 2θ

收集时间：4 秒 / 步。

[0228] 实施例 12.

实施例 12 描述生成 (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的多晶型物的 XRPD 衍射图的方法。

[0229] 使用 Cu K α 辐射 (40kV, 40 mA)、 $\theta - 2\theta$ 测角仪、和 V4 的散度和接收缝隙、Ge- 单色器和 Lynxeye 检测器，在 Bruker D8 衍射计上收集高分辨率 X-Ray 粉末衍射图。使用经检验的刚玉标准 (NIST 1976) 检查仪器性能。用于数据收集的软件是 Diffrac Plus XRD Commander v2.5.0，并且数据使用 Diffrac Plus EVA v 11, 0.0.2 或 v 13.0.0.2 进行分析且呈现。

[0230] 使用如接收的粉末，将样品作为平板样品在环境条件下运行。将约 100 mg 样品轻轻填充到圆形腔内，其切割成抛光的零本底 (510) 硅晶片。将样品在分析过程中以其自身平面旋转。用于一般程序的数据收集细节是：

角范围：2 至 42 ° 2θ

步长：0.05 ° 2θ

收集时间：5 秒。步⁻¹。

[0231] 实施例 13.

实施例 13 描述来自 (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的多晶型物的 XRPD 图。

[0232] (-)- 反式 -3-(5,6- 二 氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-*i,j*] 噻啉 -1- 基)-4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的两种非溶剂化物多晶型物：1 型和 2 型（参见图 12 和 13）。

[0233] 1 型显示包含以 8.2、10.8 和 14.1 角度的 2θ 值的 XRPD 图（参见图 12 和表 1）。

[0234] 2 型显示包含以 6.5、9.9 和 12.0 角度的 2θ 值的 XRPD 图（参见图 13 和表 1）。

[0235] 表 1

1型	8.2	10.8	14.1	总计	2型	6.5	9.9	12.0	总计
	面积	面积	面积	面积		面积	面积	面积	面积
1	3.925	14.08	6.646	24.651	1	6.433	5.284	10.40	22.117
2	3.866	13.98	6.608	24.454	2	6.437	5.365	10.51	22.312
3	3.847	14.03	6.625	24.502	3	6.504	5.341	10.49	22.335
4	3.880	13.99	6.556	24.426	4	6.467	5.321	10.44	22.228
5	3.889	13.88	6.619	24.388	5	6.484	5.331	10.50	22.315
6	3.854	13.92	6.586	24.360	6	6.502	5.281	10.38	22.163
平均值	3.88	14.0	6.61	24.464	平均值	6.47	5.32	10.45	22.245
RSD(%)	0.73	0.52	0.48	0.43	RSD(%)	0.00	0.00	0.01	0.02

[0236] 实施例 14.

如互变实验中测定的,1型是比2型更热力学稳定的。1型是正交晶的,并且含有4个分子的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 / 晶胞。1型具有在DSC中记录的~218°C的熔点(参见,图16)。

[0237] 2型包含双折射杆状晶体。在2型的多个分批贮存于40°C / 75% RH高达6个月和25°C / 60% RH高达12个月后,未观察到结晶形式或纯度中的可辨别变化。2型的空间群是P2₁或P2:在晶胞中存在2个分子的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮(在不对称单位中的一个分子),并且在由溶剂分子占据的晶胞中不存在超额体积。2型具有在DSC中记录的~216°C的熔点(参见,图16)。

[0238] 在化合物10的按比例扩大进行至作为单个分批的>5 kg生产后,1型自发产生。红外线(IR)和X射线粉末衍射(XRPD)确定为用于两种形式的鉴定和区分的有效分析工具(参见图14和15)。该过程经由在7-kg规模证实的播种容易地控制。

[0239] 当适当条件用于控制结晶过程时,两种多晶型物是可以互换的。2型可以通过将1型溶解于甲醇中,用2型播种且通过旋转蒸发将混合物蒸发至干燥而获得。成功转化通过IR分析测定为2型且通过XRPD分析确证。

[0240] 实施例 15.

1型的IR光谱展示在2型中未观察到的集中于~3300 cm⁻¹的强烈振动(图15,小图A),而2型的IR光谱显示在1型中未观察到的集中于~800 cm⁻¹的相对强烈的峰(图15,小图B)。

[0241] 1型和2型具有不同的平衡溶解度:2型=0.61 mg/mL,并且1型=0.51 mg/mL。图17,小图A显示从0-70°C 1和2型在甲醇中的溶解度。图17,小图B显示1和2型在50 mM pH 6.8 磷酸盐缓冲液/1% SLS中的固有溶解度。

[0242] 实施例 16.

将指数生长的MDA-MB-231细胞或MIA PaCa-2(也称为PACA-2)细胞以1,000细胞/孔种植于6孔板中,并且允许贴壁24小时。将MDA-MB-231和MIA PaCa-2细胞在补充有10%(v/v)胎牛血清(FBS)和5 ml青霉素/链霉素的DMEM中在37°C在5% CO₂中培养。将MDA-MB-231和MIA PaCa-2分别在雌激素受体阴性人乳腺癌和胰腺癌细胞系中建立。将(±)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮或(±)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*] 喹啉-1-基)-4-(1H-吲

哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮各自以 10 mM 的浓度溶解于 DMSO 中,并且分别以 0.1、0.25、0.5、1 或 2 μM 的浓度加入细胞中。对照板接受单独的 DMSO, 以与最高浓度的药物结合施用的那种相同百分比的总培养体积。每天观察细胞培养物共 10-15 天, 随后固定且用改良 Wright-Giemsa 染剂 (Sigma) 染色。用 (\pm)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (\pm)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮处理导致 MDA-MB-231 细胞或 Paca-2 细胞的细胞死亡。参见例如图 2。发现关于 (\pm)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 IC_{50} 为 0.5 μM 。发现关于 (\pm)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 IC_{50} 值为 0.5 μM 。

[0243] 实施例 17.

将在 DMEM 加上 15% 热灭活的胎牛血清加上 10 mM HEPES pH 7.5 中生长的 MDA-MB-231 细胞 (ATCC #HTB-26) 在 60 mm^2 板 (2×10^5 细胞 / 板) 中铺平板。在 2 天后, 将以各种浓度的候选化合物的 DMSO 溶液在培养基中稀释, 并且加入个别板, 从而使得细胞培养基中的最终 DMSO 浓度是 0.1%。在 2 天温育后, 将培养物胰蛋白酶消化, 将细胞用培养基洗涤, 使用血球计数, 并且将 500 个细胞 (包括细胞体) 在 100 mm^2 板中在培养基中铺平板。2 周后, 去除培养基, 并且将细胞集落用甲醇固定 10 分钟, 用 1% 结晶紫染色 10 分钟, 用水洗涤且风干。当存在超过 50 个细胞 / 集落时, 目测计数细胞集落。铺平板效率定义为形成的集落的平均数目除以 500。存活分数定义为候选化合物的铺平板效率除以 DMSO 的铺平板效率乘以 100。对于候选化合物滴定, 通过将等式 $y=Ae^{Bx}$ 与数据点拟合且外推其中存活分数等于 50 的浓度来测定 IC_{50} 值。用 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮处理导致 MDA-MB-231 细胞的细胞死亡。参见例如图 3。发现关于 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 IC_{50} 为 0.62 μM 。发现关于 (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮的 IC_{50} 为 4.1 μM 。

[0244] 实施例 18.

将重组蛋白激酶 C (Calbiochem) (100 ng) 与 0.05、0.5 或 10 μM 的 (\pm)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (\pm)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮一起在室温温育 15 分钟。随后, 将在含有 20 μM ATP、0.2 $\mu\text{Ci}/\mu\text{l}$ $\gamma^{32}\text{P}$ -ATP、0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 组蛋白 H1 (Upstate Biotechnology/Millipore, Bedford, MA) 的激酶缓冲液 (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM MgCl₂) 中的放射性标记混合物加入每种样品中。激酶反应在室温进行 5 分钟。将反应产物通过 12% SDS-PAGE 和放射自显影术分析。

[0245] 与用单独的载体处理相比较, 重组蛋白质激酶 C 用测试浓度的 (\pm)-顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮或 (\pm)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在室温处理 15 分钟不减少激酶活性。参见例如图 4。

[0246] 实施例 19.

在所示浓度的分开对映体 (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮和 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的不存在或存在下, 将MDA-MB-231细胞血清剥夺过夜(16小时)。将细胞用100 ng/ml重组人肝细胞生长因子/散射因子(HGF/SF)(R&D Systems #294-HG)处理10分钟。将全细胞提取物在裂解缓冲液(20 mM Tris-HCl pH 7.5、150 mM NaCl、1 mM Na₂EDTA、1 mM EGTA、1% Triton X-100、2.5 mM 焦磷酸钠、1 mM β-甘油磷酸盐、1 mM Na₃VO₄、1 μg/ml亮抑酶肽、1 mM 苯甲基碘酰氟)中制备且超声处理。根据制造商的说明, 使用BioRad试剂(BioRad, Hercules, CA)通过Bradford测定来测量蛋白质浓度。将样品(50 μg蛋白质)在还原条件下通过8% SDS-PAGE分辨且转移到PVDF膜(BioRad)上。将膜在含5%乳的TBS-T(50 mM Tris-HCl(pH = 7.6)、200 mM NaCl、0.05% Tween 20)中温育1小时。通过在含5%乳和针对磷酸化c-Met(#3121)的多克隆抗体或针对β-肌动蛋白(A-5441)(Sigma)(其用作用于总蛋白质装载的对照)的单克隆抗体的TBS-T中在4℃温育过夜检测蛋白质。在TBS-T中充分洗涤后, 将辣根过氧化物酶缀合的抗兔IgG(1:5000)或抗小鼠IgG(1:2000)(Amersham Biosciences)加入1小时, 并且根据制造商的说明书, 使用增强化学发光检测系统(Amersham Biosciences)显现特定蛋白质带。参见例如图5。

[0247] 用(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮处理在至少30 nM浓度抑制c-Met的基本和HGF诱导的自磷酸化。相比之下, (+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮仅在高得多的浓度(20 μM)对c-Met磷酸化具有最低限度抑制作用。参见例如图5。

[0248] 实施例 20.

在1:200荧光Annexin V(绿色)和1:500碘化丙啶(品红, 终浓度1 μg/mL)添加前, 将在96孔板(Costar 3603, 5,000/孔)中的A549人肺癌细胞用A)作为对照的DMSO; B) 1.2 μM(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮处理38小时。使标记程序在37℃进行20分钟, 随后使用IC100 Image Cytometer(Beckman Coulter, Inc)用10X放大率进行图像采集和分析。

[0249] 为了测定(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮主要通过细胞生长抑制还是凋亡机制工作, 使暴露于(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的癌细胞用荧光标记的Annexin V(绿色荧光)和碘化丙啶(亮洋红色荧光)染色。Annexin V是充分验证的试剂, 其以高亲和力特异性结合外部化膜磷脂酰丝氨酸, 凋亡发生的早期标记, 而碘化丙啶是用于死细胞的标记。人肺癌细胞(A549)与1.2 μM(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮一起温育38小时诱导细胞经历凋亡, 如通过强Annexin V染色证明的。小百分比的细胞(~10-20%)由Annexin V和碘化丙啶共染色, 指示(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-*i,j*]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮处理细胞的亚群在38小时内已经死亡。这些数据与(-)-反式-3-(5,6-

氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮在很大程度上通过凋亡机制的激活诱导细胞死亡一致(参见图6)。

[0250] 实施例21.

将MDA-MB-231细胞用所述浓度的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮预处理24小时。将300 μl每种细胞悬液(在无血清培养基中以 0.5×10^6 细胞/mL的浓度)置于个别插入物(inserts)中,并且在37℃温育24小时。容纳插入物的底部孔含有500 μl含10% FBS培养基。在24小时时,将来自每个插入物的培养基抽吸,并且未能侵入的细胞用棉末端拭子从插入物的内部轻轻去除。随后将每个插入物转移至含有细胞染色溶液的干净孔,并且在室温温育10分钟。通过在提取溶液中温育使插入物的底部脱色,并且测量在560 nM的OD。(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮抑制MDA-MB-231癌细胞的汇合培养物中跨越间隙的迁移。数据代表两次独立实验的平均值。(参见图7)。

[0251] 起因于大多数癌症的发病率和死亡率是从原发性肿瘤到其他组织的局部侵入和转移的结果。这个过程主要取决于肿瘤细胞的运动性和生长。c-Met通过HGF的激活诱导多种细胞应答,包括运动性、侵入、伤口愈合和组织再生。已确定c-Met的异常激活在原发性肿瘤和继发性转移灶的发生和进展中起关键作用。HGF具有解离上皮层且刺激细胞运动和侵入通过细胞外基质底物的能力,并且HGF生产与体内肿瘤转移关联。

[0252] 如上所述,(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮抑制MDA-MB-231乳腺癌细胞的侵入表型,具有约500 nM的估计IC₅₀值。类似结果用脑和肺癌细胞可见。即,结果显示(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮抑制转移癌细胞侵入。

[0253] 实施例22.

(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮显示在人乳腺癌异种移植物中的功效。将MDA-MB-231人乳腺癌细胞皮下接种到雌性无胸腺裸鼠(8.0×10^6 细胞/小鼠)内,并且使其形成可触摸肿瘤。一旦肿瘤达到约60 mm³,就将动物用200 mg/kg的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮或载体对照每天口服处理(连续5天,随后为2天给药假期)。(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮在PEG 400:20%维生素E TPGS(60:40)中配制。动物接受(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮或载体对照的总共20个剂量。在处理自始至终和处理后观察期测量肿瘤。每个点代表10个肿瘤的平均值±SEM。(参见图8)。

[0254] 用作为单一疗法的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮处理在减慢肿瘤生长方面是有效的。(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的肿瘤生长抑制计算为79%,并且是统计上显著的($p = 0.009$)。由于载体或200 mg/kg的(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲

哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮的口服施用,不存在体重中的显著变化。

[0255] 实施例 23.

在人结肠癌异种移植物模型中,将 HT-29 人结肠癌细胞皮下接种到雌性无胸腺裸鼠 (5×10^6 细胞 / 小鼠) 内,并且使其形成可触摸肿瘤。一旦肿瘤达到约 60 mm^3 ,就将动物用 200 mg/kg 或 300 mg/kg 的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮或载体对照每天口服处理(连续 5 天,随后为 2 天给药假期)。(-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮在 PEG 400:20% 维生素 E TPGS(60:40) 中配制。动物接受 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮或载体对照的总共 20 次处理。在处理自始至终和处理后观察期测量肿瘤。每个点代表 10 个肿瘤的平均值 ± SEM。(参见图 9, 小图 A)。

[0256] 在这个高度侵略性结肠异种移植物模型中,用作为单一疗法的 200 mg/kg 或 300 mg/kg 给药的动物显示显著肿瘤生长抑制,其中 300 mg/kg 比 200 mg/kg 更有效。以 200 mg/kg 给药的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮显示 39% 的最佳肿瘤生长抑制 ($p = 0.006$),而 300 mg/kg 显示 55% 的最佳肿瘤生长抑制 ($p = 0.00001$)。不存在由于载体对照或以 200 mg/kg 或 300 mg/kg 的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的口服施用在体重中的显著变化。

[0257] (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的功效也在异种移植物模型中用几种其他癌细胞系进行测试:人胰腺癌 MIA PaCa2(图 9, 小图 B)、人前列腺癌 PC3(图 9, 小图 C) 和人胃癌 MKN45(图 9, 小图 D)。细胞用作为单一疗法的 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮在所示浓度处理。在所有这些模型中,(-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮显著抑制肿瘤生长。

[0258] 实施例 24.

(-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮显示针对多重癌细胞系的显著细胞毒性。将多种癌细胞系用 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮在范围为 $0.03 - 30 \mu\text{M}$ 的所示浓度处理。这些细胞对 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮的敏感性通过标准细胞毒性 MTS 测定进行测量(图 10)。表达 c-Met 和 / 或磷酸 -c-Met 的人癌细胞系对 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮是敏感的。相比之下,具有无法免疫检测的 c-Met 或磷酸 -c-Met 的人癌细胞系(图 10, SK-MEL-28、MCF-7 和 NCI-H661) 显示很少的敏感性。

[0259] 实施例 25.

(-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲哚 -3- 基) 吡咯烷 -2,5- 二酮就其抑制人激酶的大实验对象组 ($n = 230$) 的活性进行评估。表 2 中所示的数据证实 (-)- 反式 -3-(5,6- 二氢 -4H- 吡咯并 [3,2,1-ij] 噻啉 -1- 基) -4-(1H- 吲

哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮仅抑制 c-Met 至显著程度,并且证实针对小数目其他激酶的中等活性。(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮显示针对 c-Met 的 ~360 nM 的抑制常数 (K_i)。

[0260] 表 2

激酶	IC_{50}
CAMKII δ	~10 μM
Flt4	~16 μM
PAK3	~6.6 μM
Pim-1	10 μM (33 % 抑制)

[0261] 实施例 26.

具有 HT-29 人结肠癌细胞的人结肠癌异种移植物模型如实施例 23 中所述建立。将荷瘤小鼠用单一剂量的 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮 (300 mg/kg) 处理。24 小时后免疫组织化学检测磷酸-c-Met 的还原。使用采用二氨基联苯胺的免疫过氧化物酶系统显现磷酸-c-Met 的量中的显著减少,这获得不溶性褐色反应产物(图 11, 小图 A)。用于磷酸-c-Met 的肿瘤样品的蛋白质印迹证实免疫组织化学分析(图 11, 小图 B)。

[0262] 实施例 27.

本实施例描述在透明细胞肉瘤和 MiT(小眼转录因子)相关肿瘤中 c-Met 受体酪氨酸激酶的抑制。本发明的化合物还证实在具有透明细胞肉瘤的患者中的功效。本实施例中描述的研究使用 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮, c-Met 受体酪氨酸激酶的小分子抑制剂。

[0263] (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮是受体酪氨酸激酶 c-Met 的选择性抑制剂。当异常激活时, c-Met 在人癌症的方面起多重作用,包括癌细胞生长、存活、血管生成、侵入和转移。上述数据证实 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮在广泛范围的人肿瘤细胞系包括透明细胞肉瘤中抑制 c-Met 激活,并且显示针对几种人肿瘤异种移植物的抗肿瘤活性。在临床研究中,用 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮处理已是充分耐受的,并且已导致跨越宽范围的肿瘤和剂量的肿瘤应答和延长的稳定疾病。

[0264] 将 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮施用于具有透明细胞肉瘤的患者。特别地, (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮证实在具有透明细胞肉瘤的患者中的部分应答,如通过 RECIST(实体瘤中的应答评价标准)定义的。

[0265] 对于 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮施用的客观应答(objective response)在受分子关联组的肉瘤肿瘤类型影响的患者队列中可见,对于所述肉瘤肿瘤类型不存在有效治疗。基于这个应答, (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮以每天两次(b.i.d.)360 毫克(mg)的剂量施用。

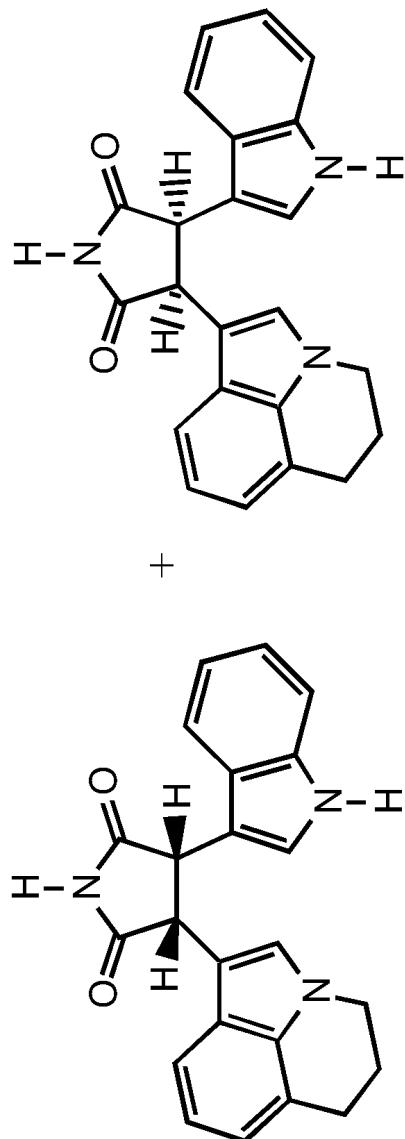
[0266] 将 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲

哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮施用于具有 MiT(小眼转录因子)相关肿瘤的患者。MiT 肿瘤可以包括透明细胞肉瘤(CCS)、软组织腺泡状肉瘤(ASPS)和易位相关肾细胞癌(RCC)，其通过负责 c-Met 超表达的共有染色体异常在生物学上连接，所述 c-Met 超表达导致这些肿瘤的发展。具有这种异常性的肿瘤对目前治疗是抗性的，并且在不存在成功手术切除的情况下，是一定致命的。

[0267] 在研究的第一个阶段过程中，23个患者参与，并且用 120 mg (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-*i,j*] 嘧啉-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮 b.i.d 治疗。这些患者中的 14 个显示对于功效是可评价的。除具有证实的部分应答的患者外，可评价患者中的 10 个具有证实的稳定疾病。

[0268] 对于 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-*i,j*] 嘙啉-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮证实的客观临床应答在数据上构建，所述数据显示通过 shRNA 的 MiT 表达敲除抑制 c-Met 表达，且在体外和体内阻碍人透明细胞肉瘤细胞的生长。这个发现导致使用 (-)-反式-3-(5,6-二氢-4H 吡咯并[3,2,1-*i,j*] 嘙啉-1-基)-4-(1H 吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮在具有 MiT 相关肿瘤的患者中的临床试验的开发，这已显示抗癌活性，包括客观肿瘤应答，以及在来自用该药物治疗的患者的肿瘤活组织检查中抑制 c-Met 蛋白质的能力。

(\pm) -顺式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮



(\pm) -反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2,5-二酮

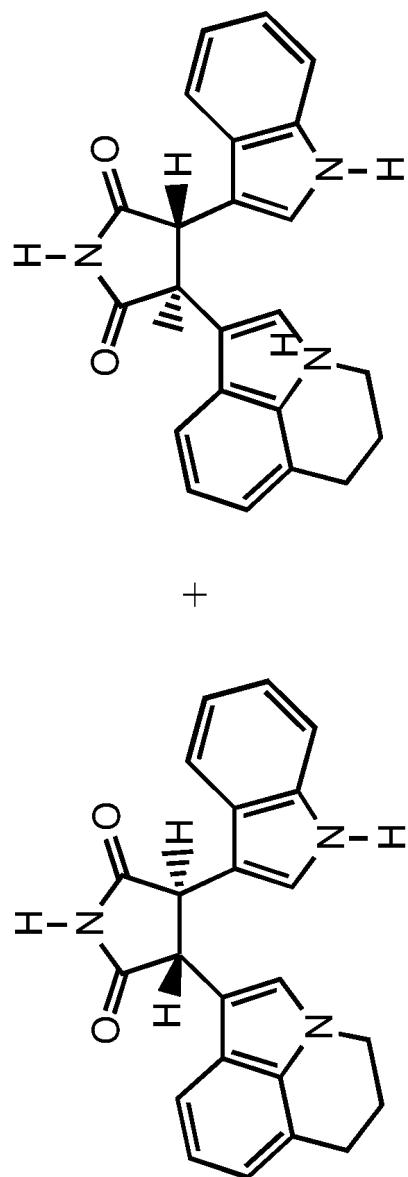


图 1

(\pm) -反式-3-(5, 6-二氢-4H-吡咯并[3, 2, 1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基) 吡咯烷-2, 5-二酮

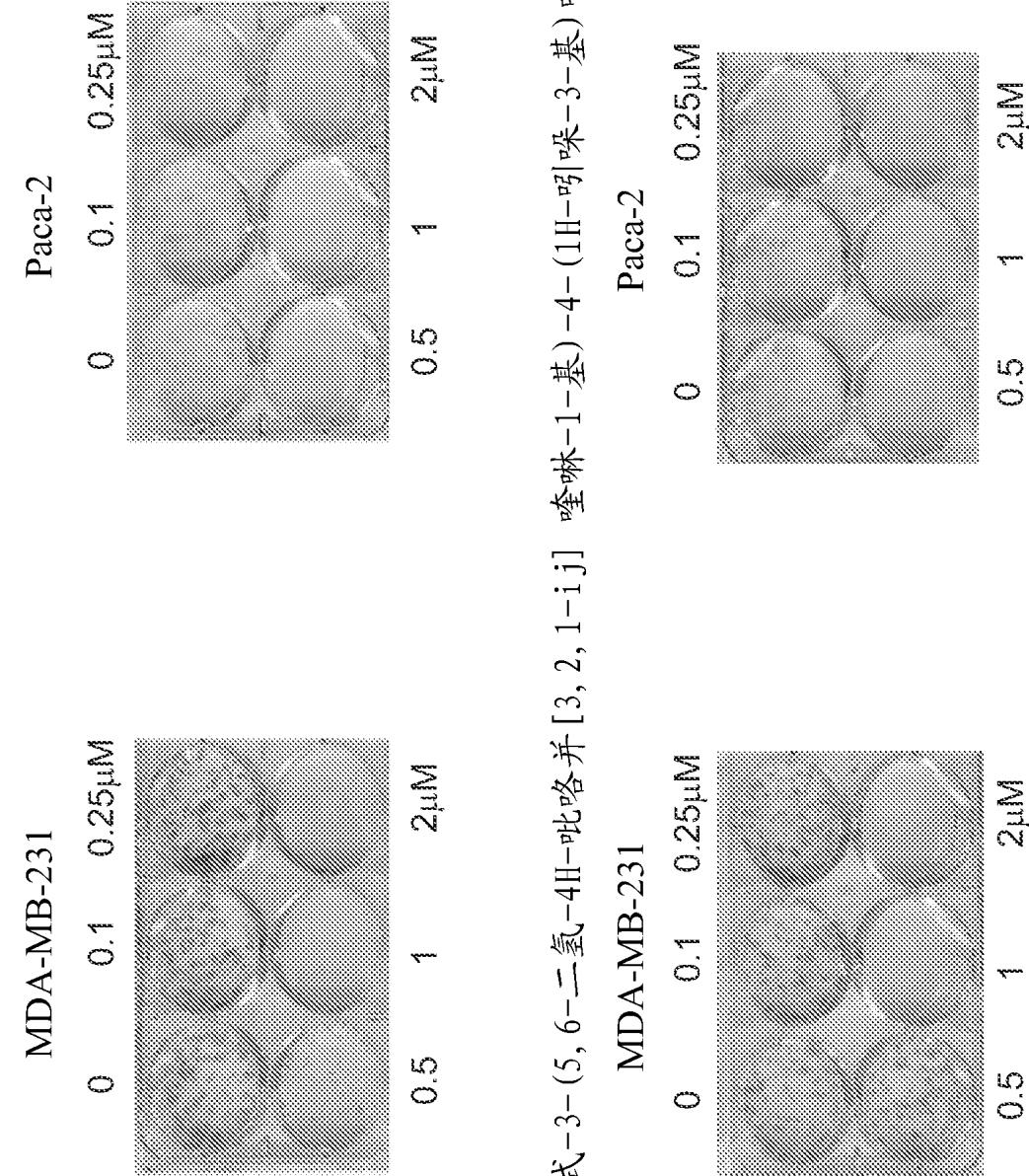
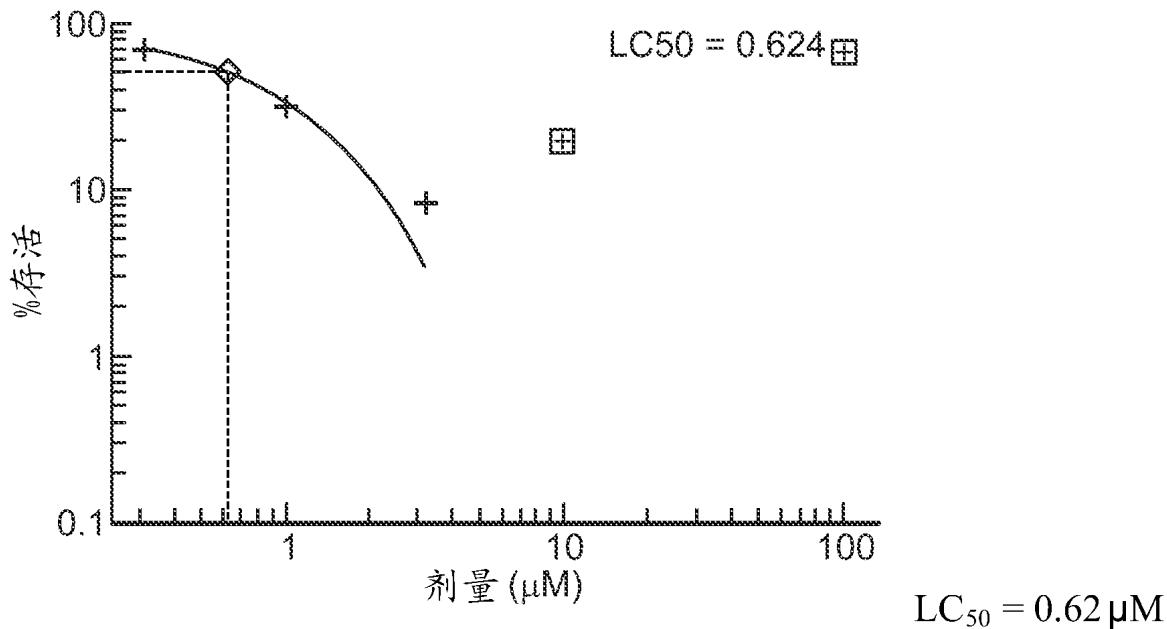


图 2

(-) - 反式 - 3 - (5, 6 - 二氢 - 4H - 吡咯并 [3, 2, 1-i j] 喹啉 - 1 - 基) - 4 - (1H - 吲哚 - 3 - 基) 吡咯烷 - 2, 5 - 二酮



(+) - 反式 - 3 - (5, 6 - 二氢 - 4H - 吡咯并 [3, 2, 1-i j] 喹啉 - 1 - 基) - 4 - (1H - 吲哚 - 3 - 基) 吡咯烷 - 2, 5 - 二酮

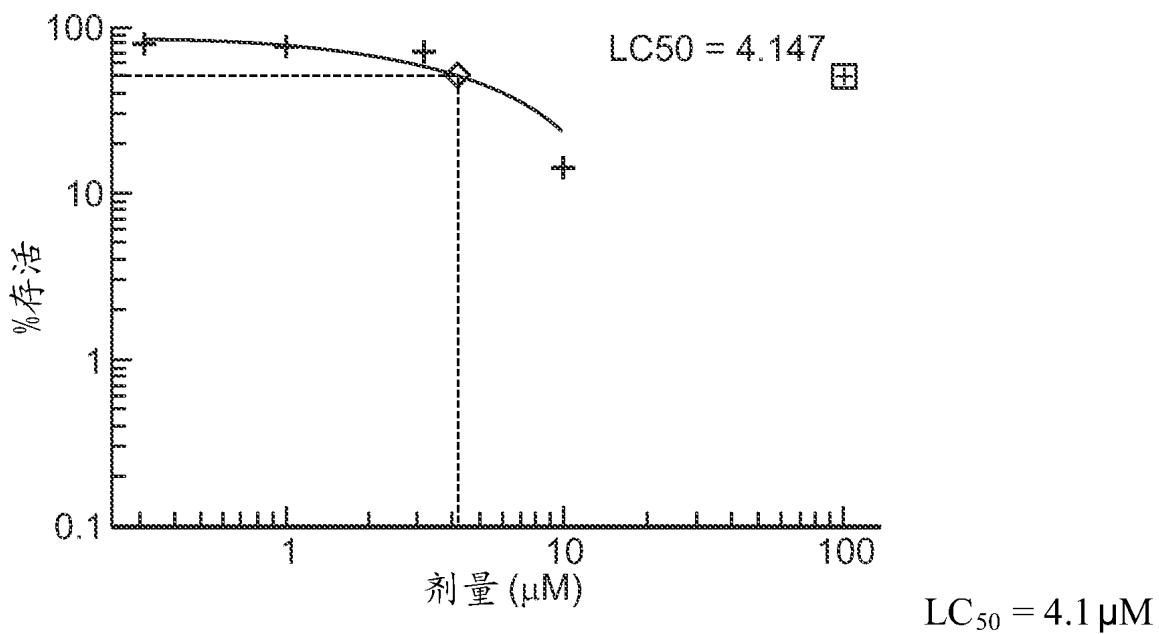


图 3

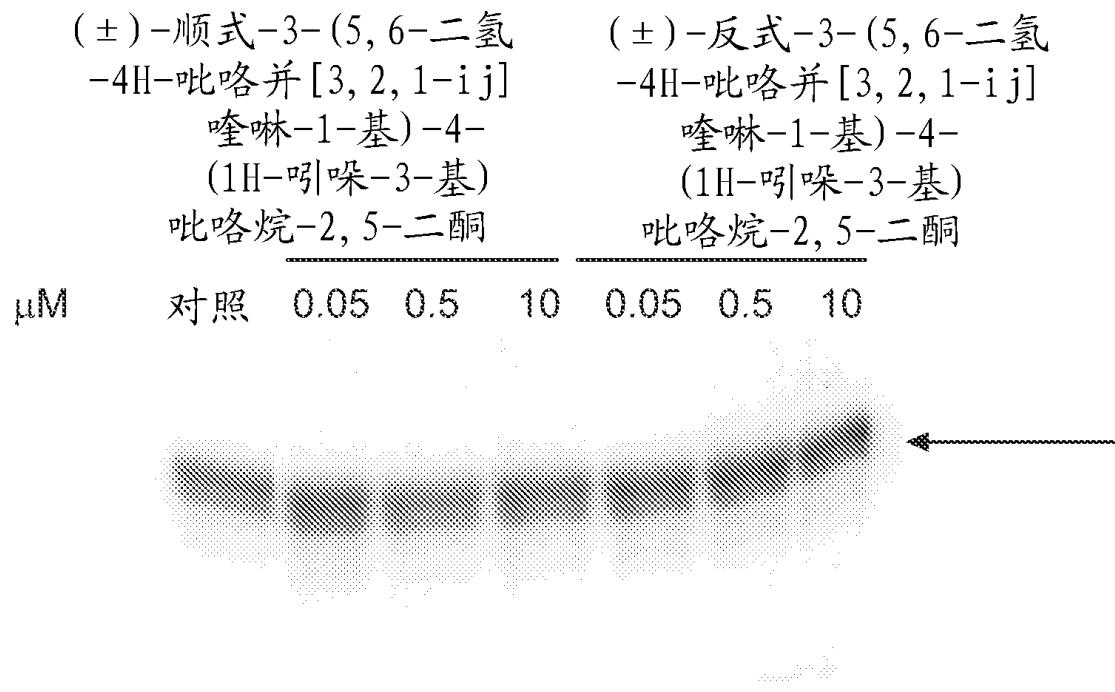


图 4

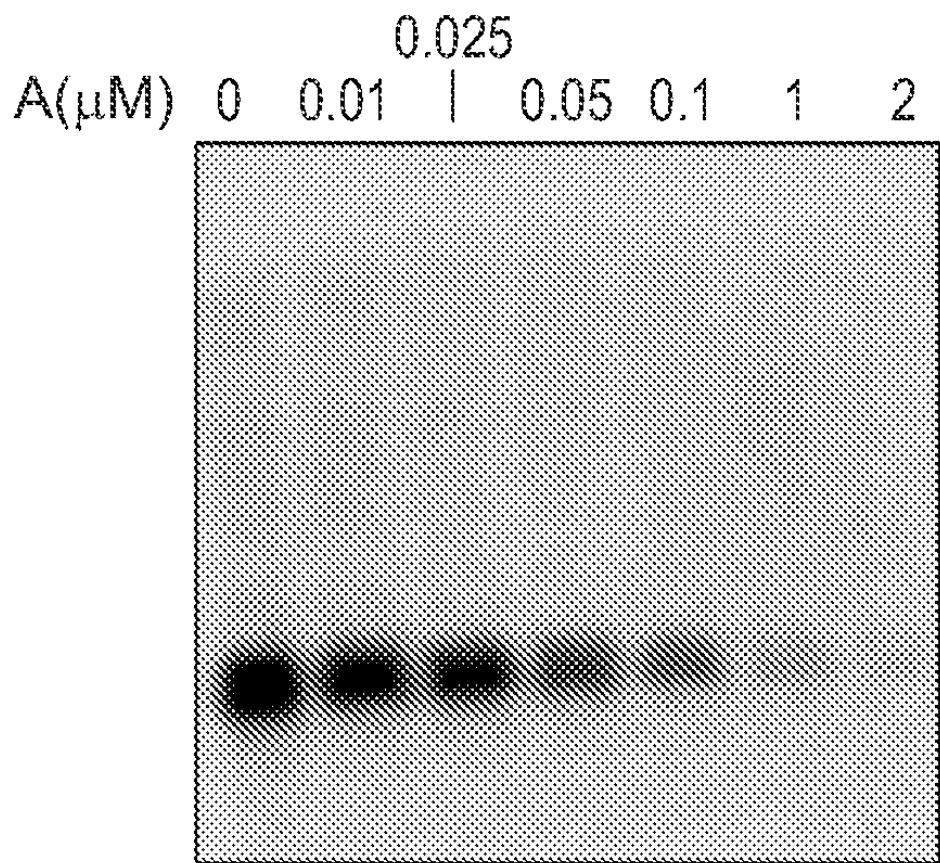
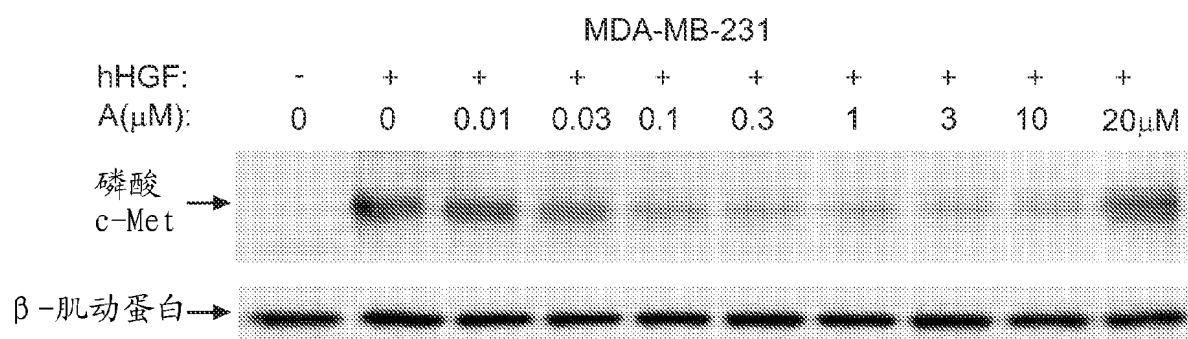


图 5A



A=(-)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮

B=(+)-反式-3-(5,6-二氢-4H-吡咯并[3,2,1-ij]喹啉-1-基)-4-(1H-吲哚-3-基)吡咯烷-2,5-二酮

图 5B

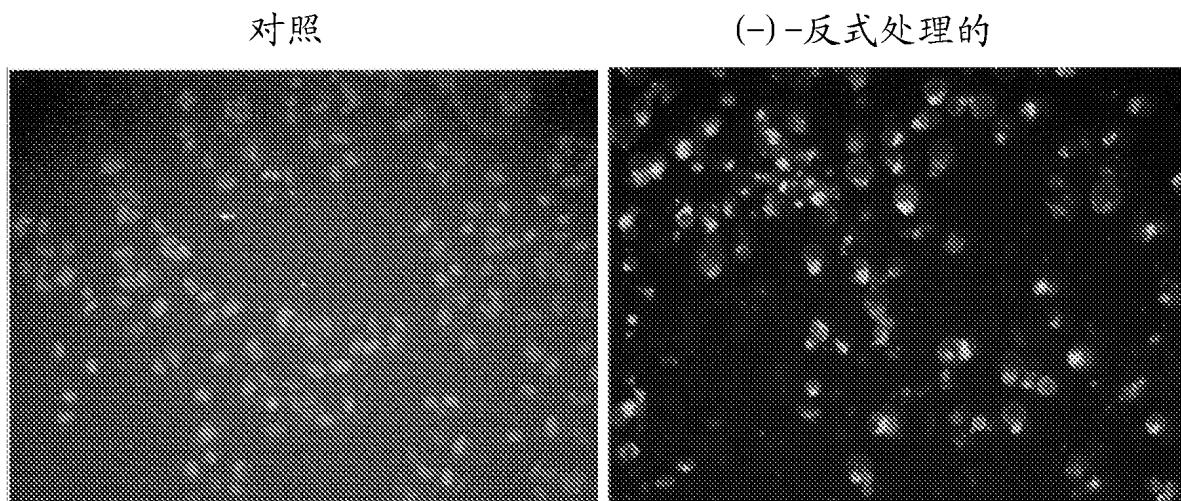


图 6

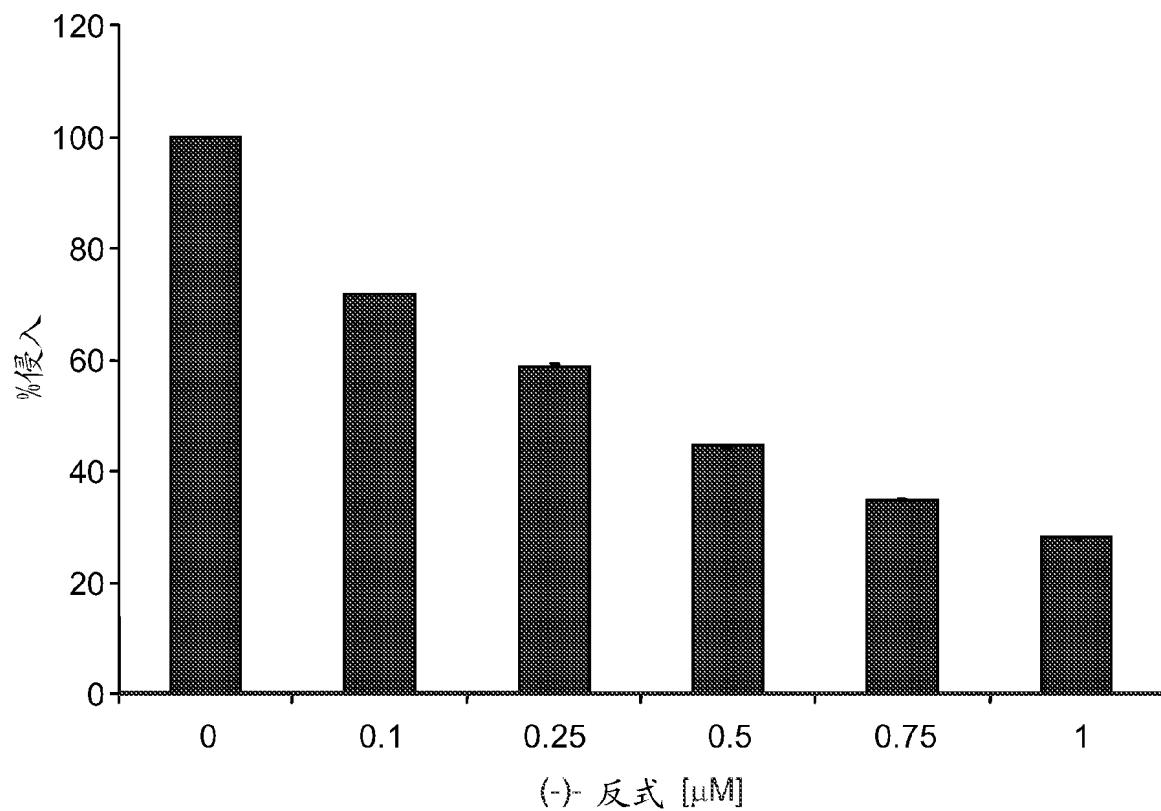


图 7

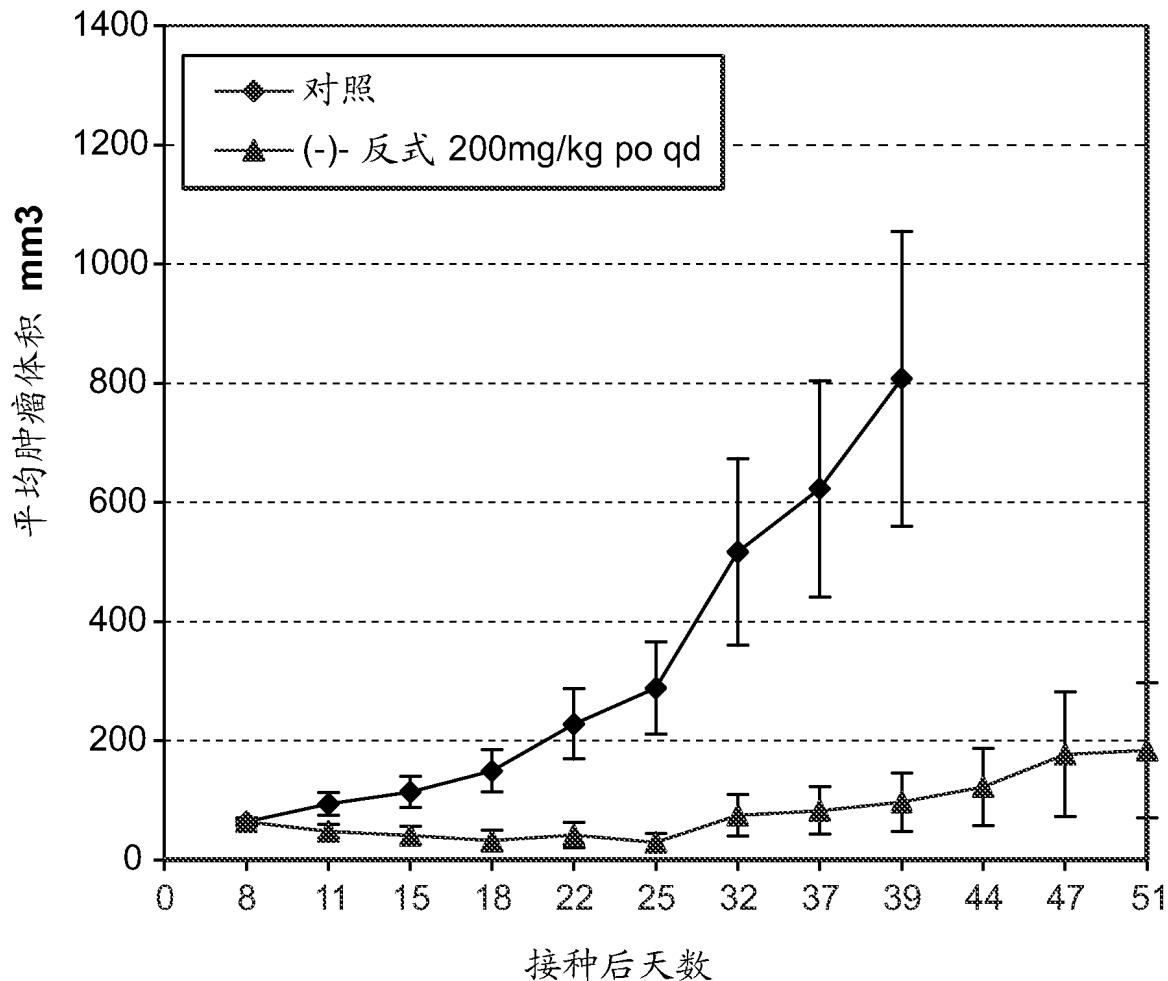


图 8

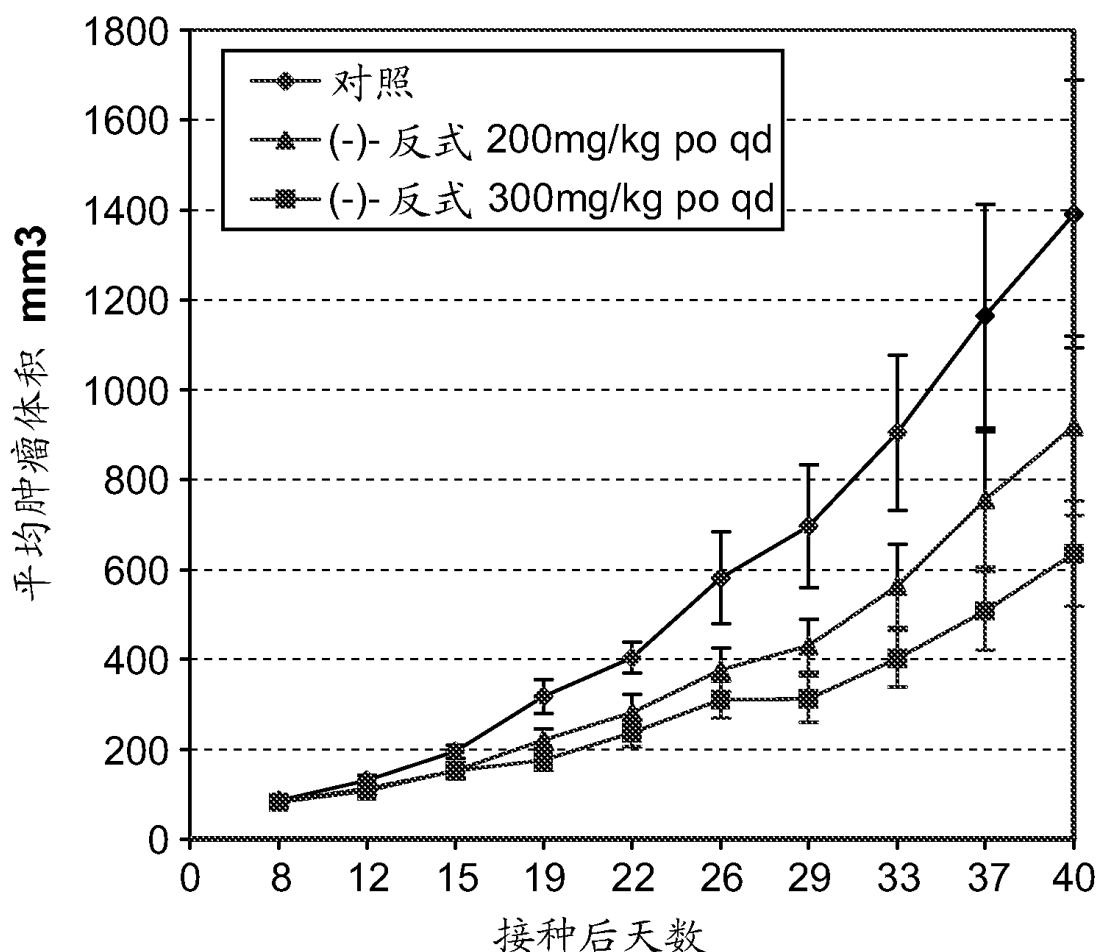


图 9A

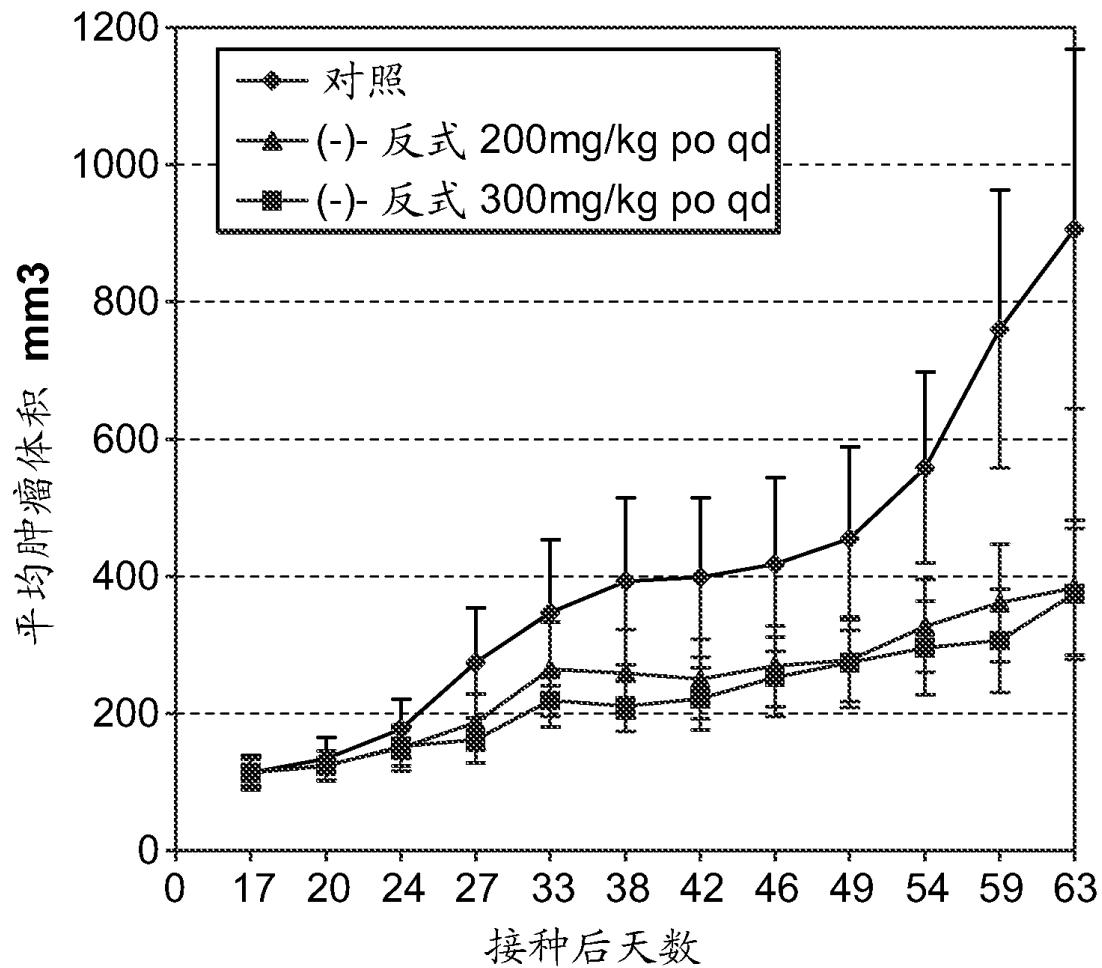


图 9B

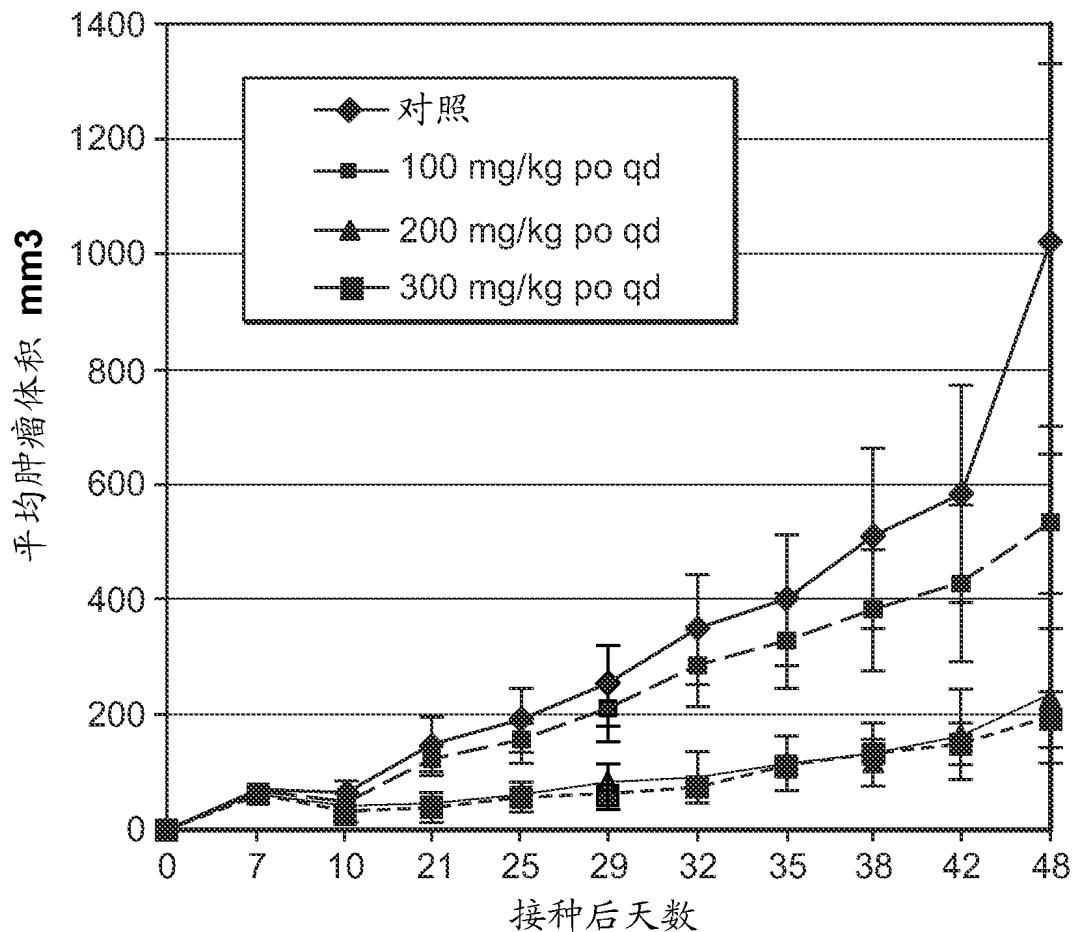


图 9C

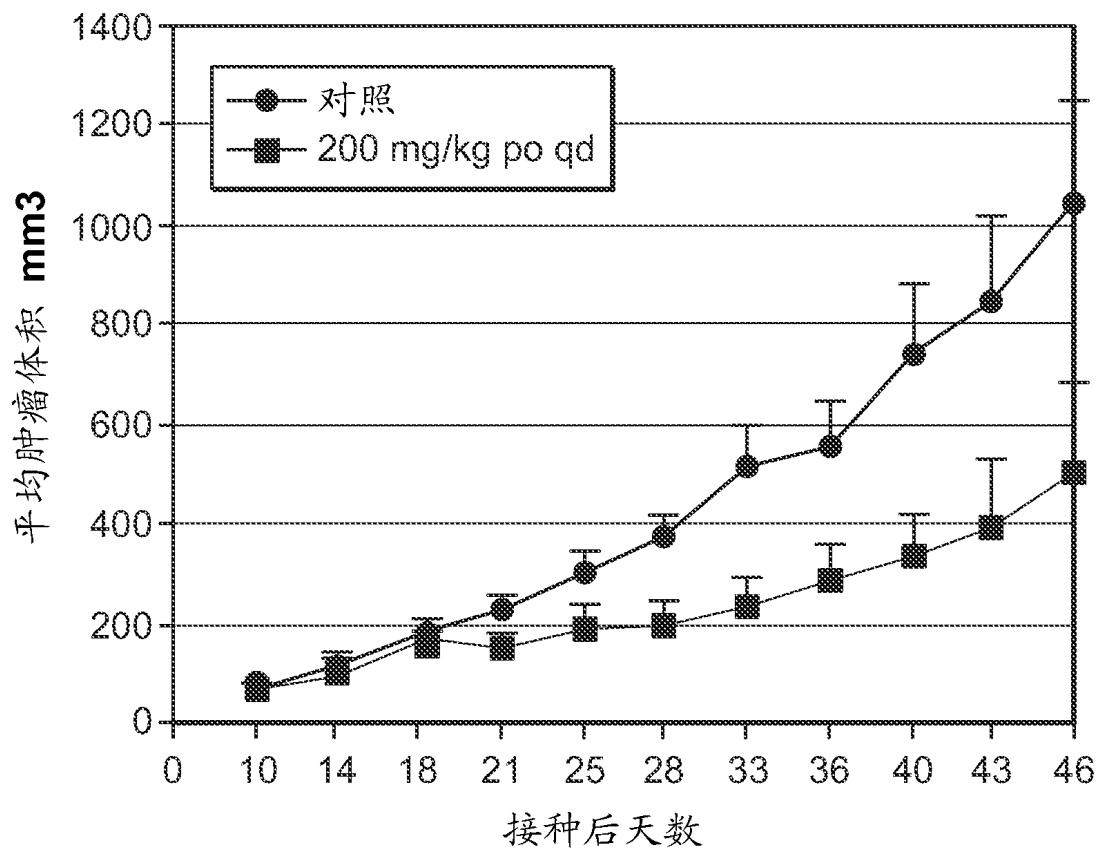
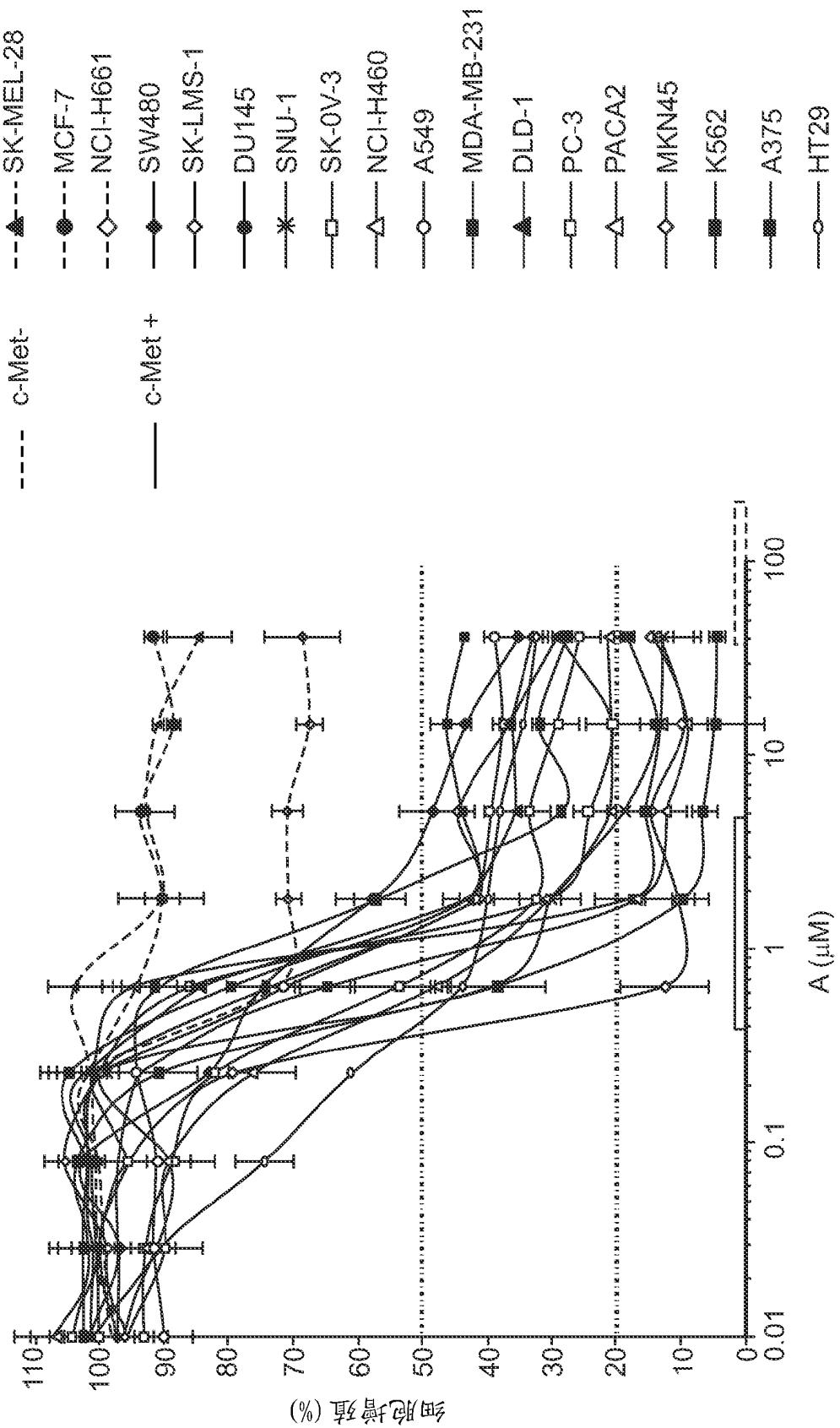


图 9D



$A=(-)-\text{反式}-3-(5,6-\text{二氢}-4\text{H}-\text{吡咯并}[3,2,1-\text{i}]\text{喹啉}-1-\text{基})-4-(1\text{H}-\text{inden}-3-\text{基})\text{吡咯烷}-2,5-\text{二酮}$

图 10

预处理 4 小时 24 小时

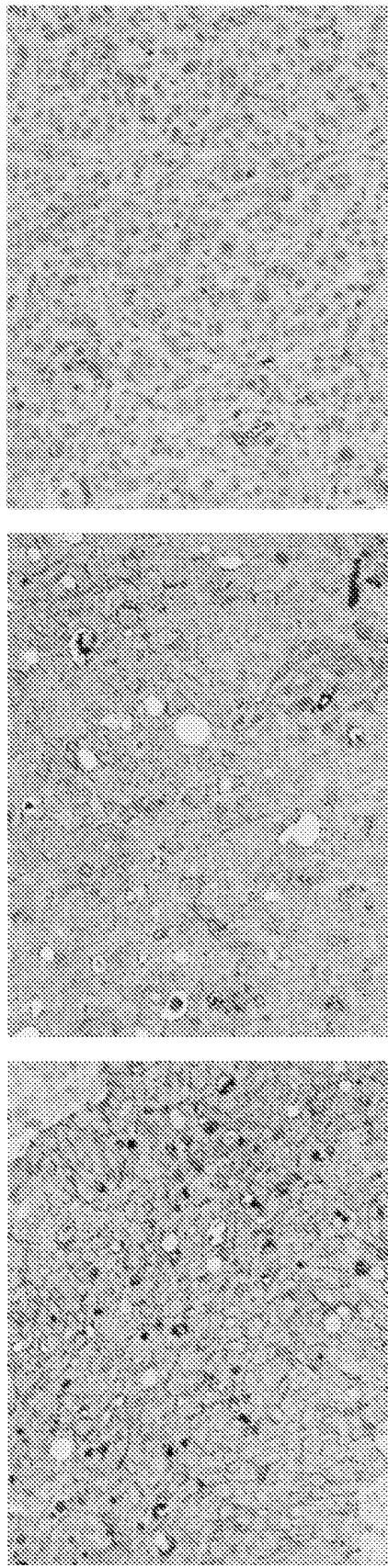
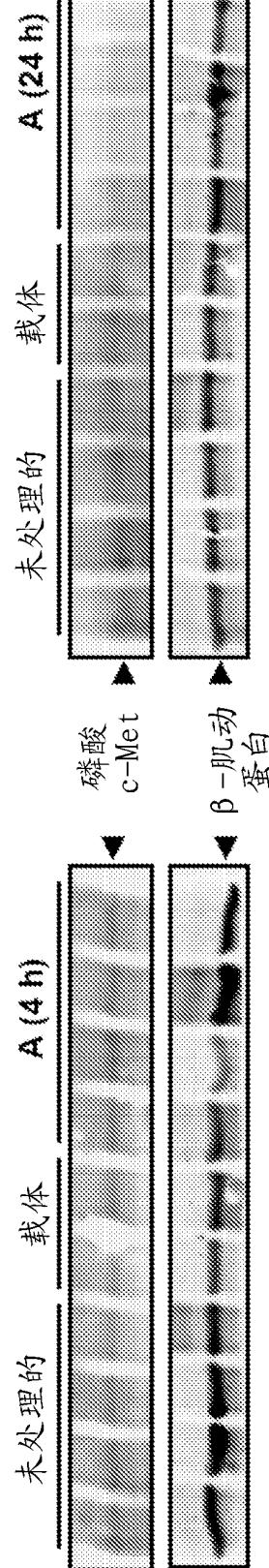


图 11A



$\text{A} = (-)\text{-反式}-3-(5,6\text{-二氢}-4\text{H}-\text{吡咯并}[3,2,1-\text{i}]\text{-喹啉}-1\text{-基})-4-(1\text{H}-\text{吲哚}-3\text{-基})\text{-吡咯烷}-2,5\text{-二酮}$

图 11B

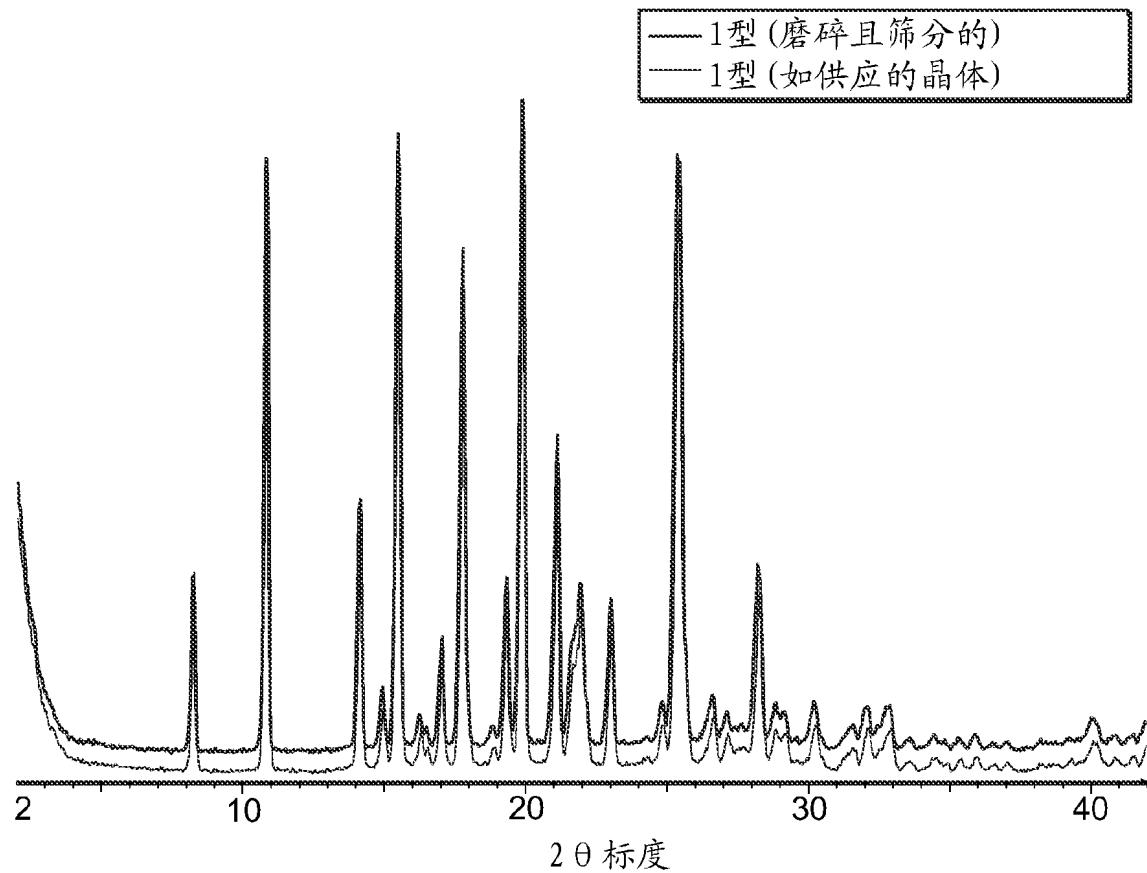


图 12A

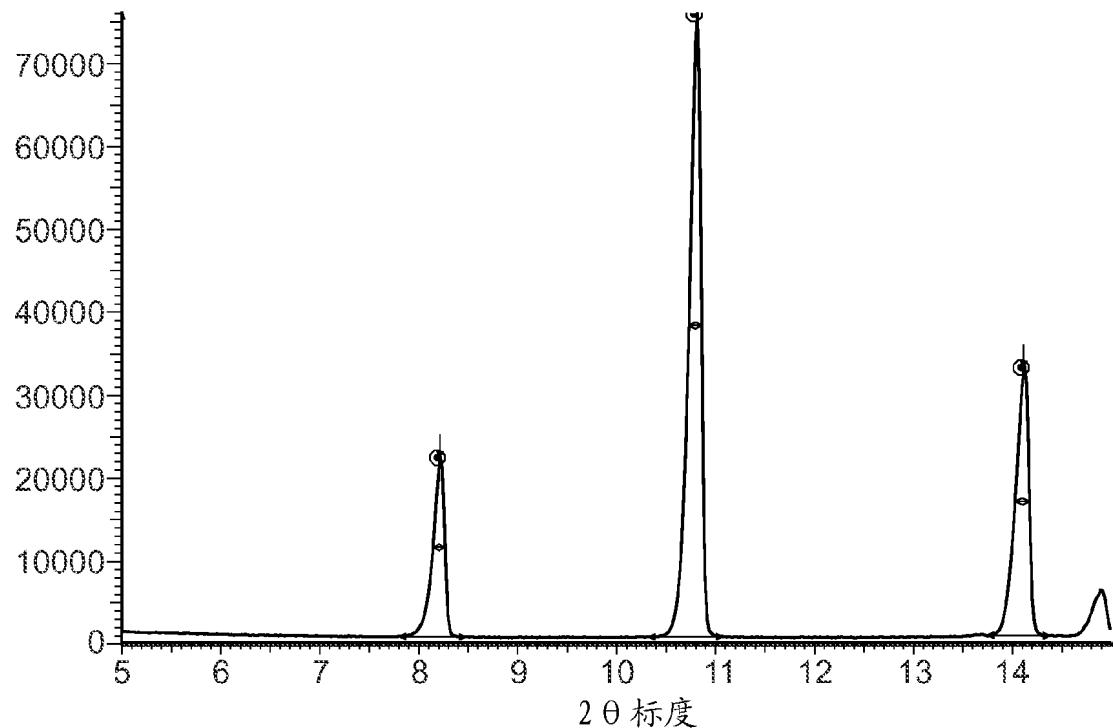


图 12B

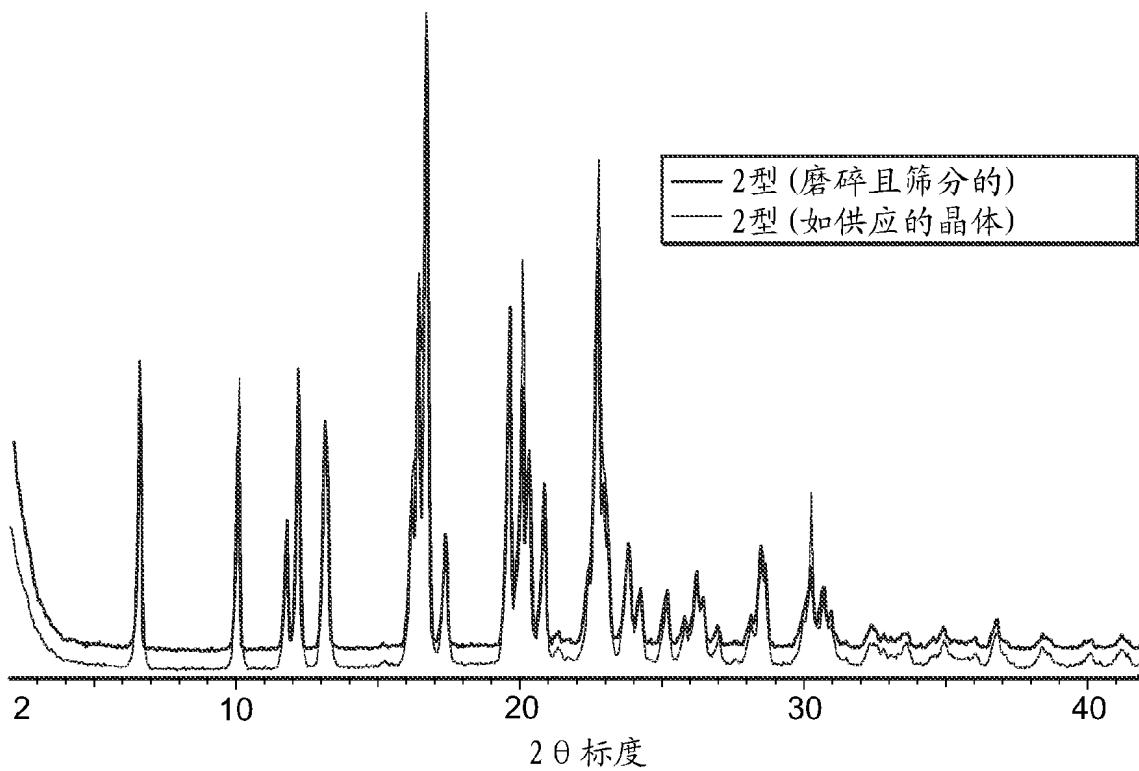


图 13A

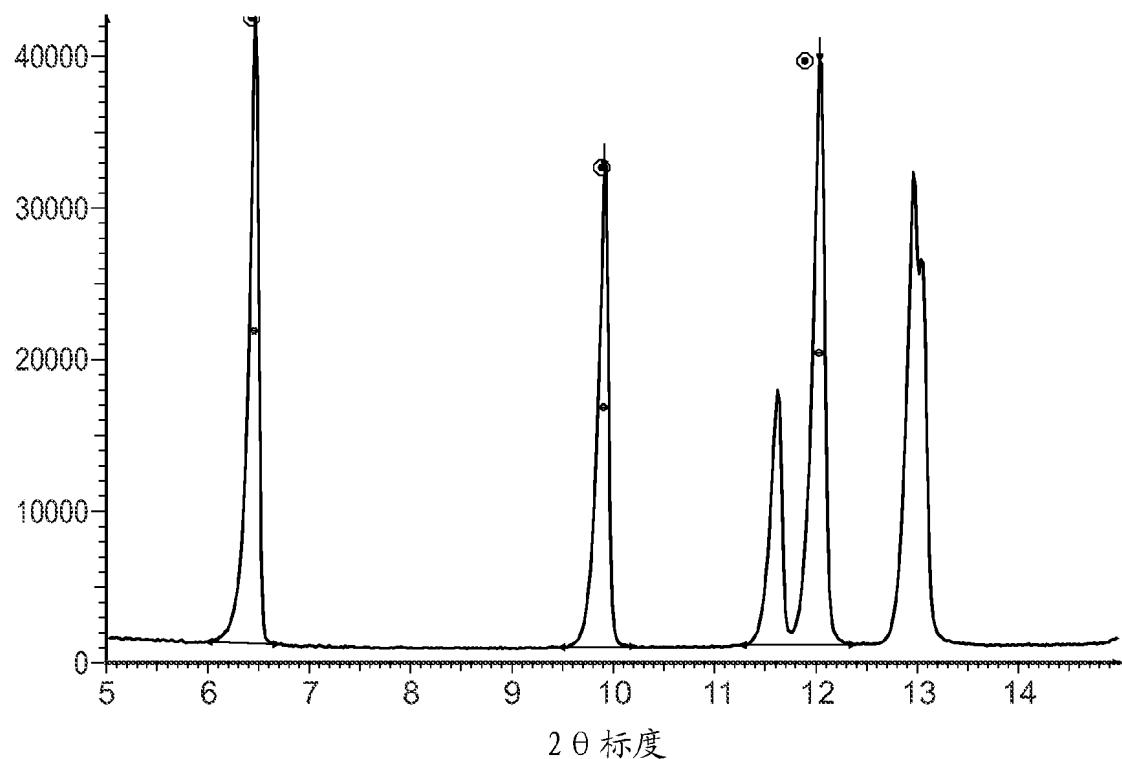


图 13B

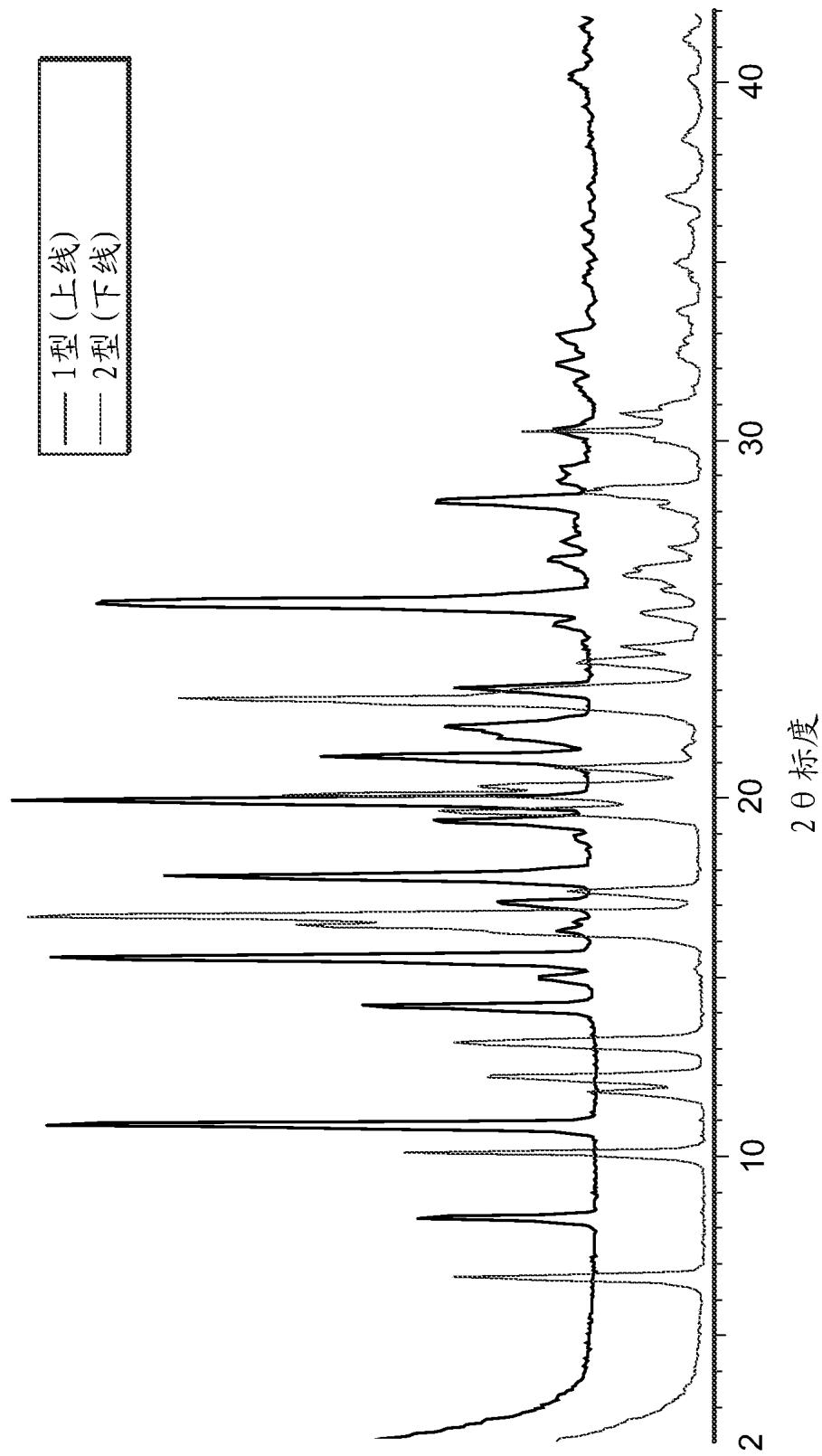


图 14

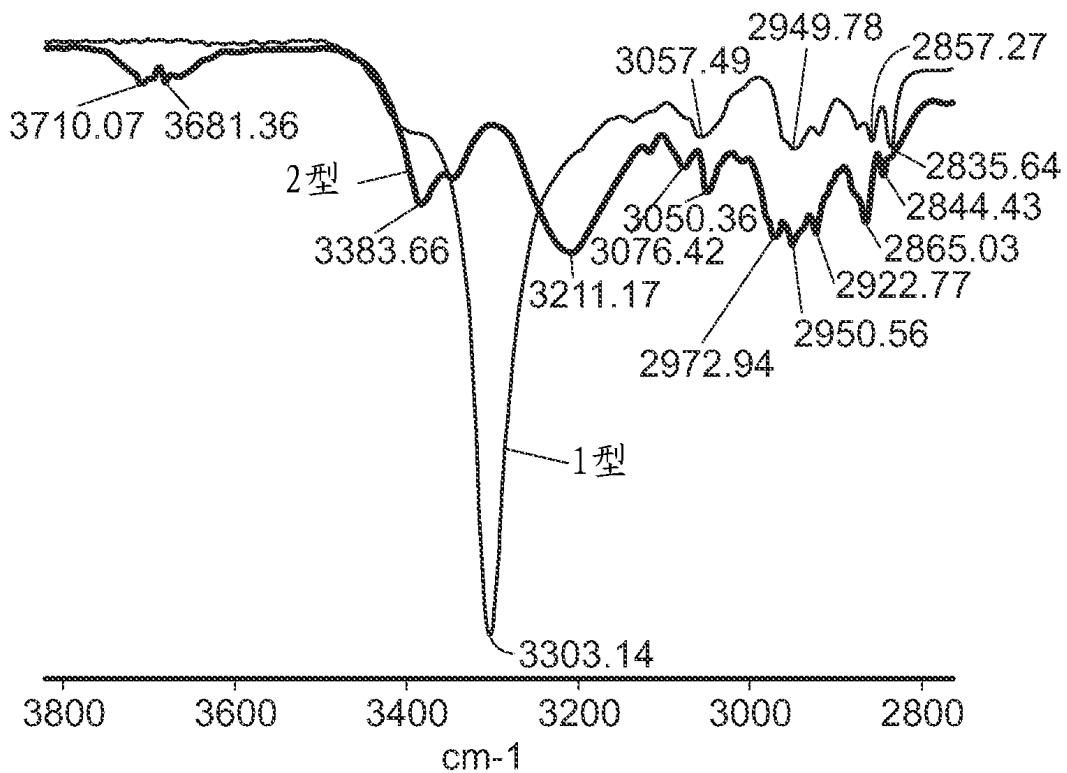


图 15A

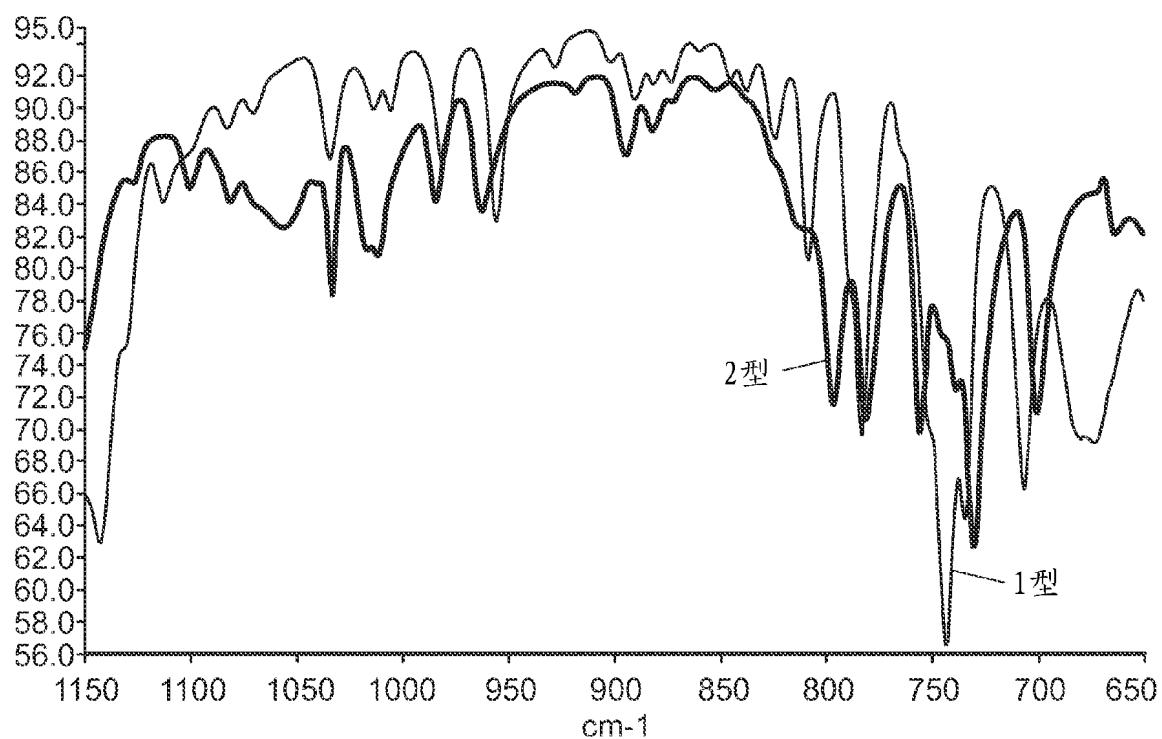


图 15B

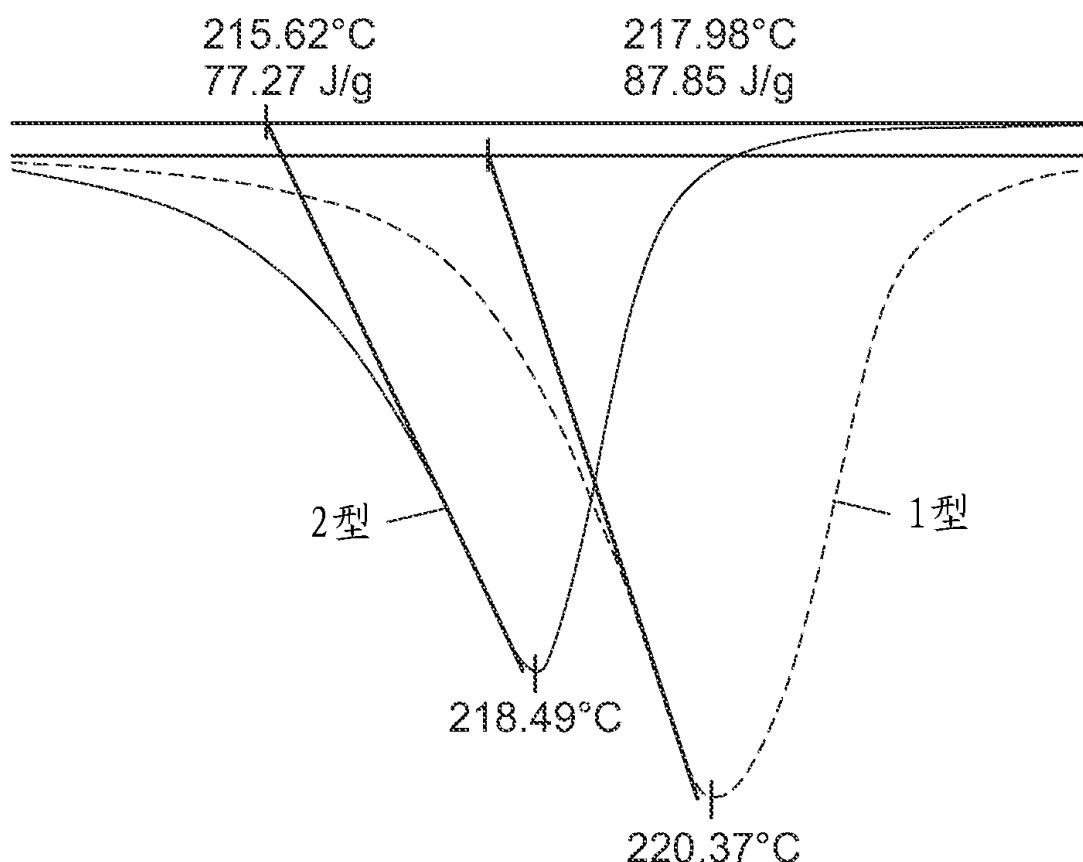
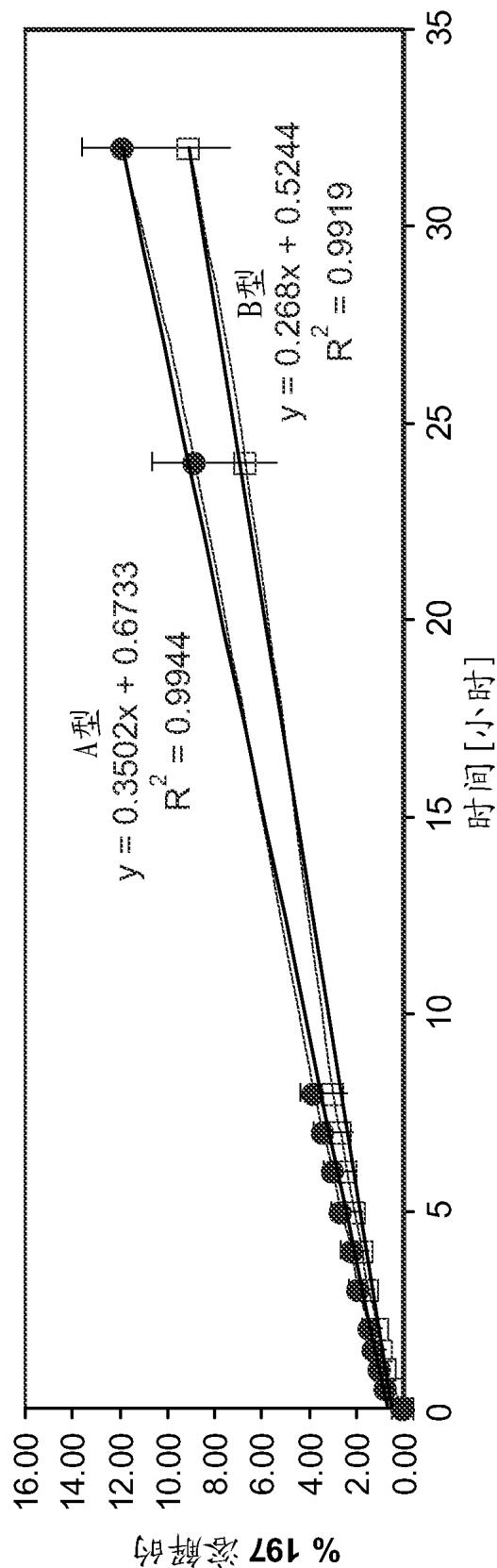
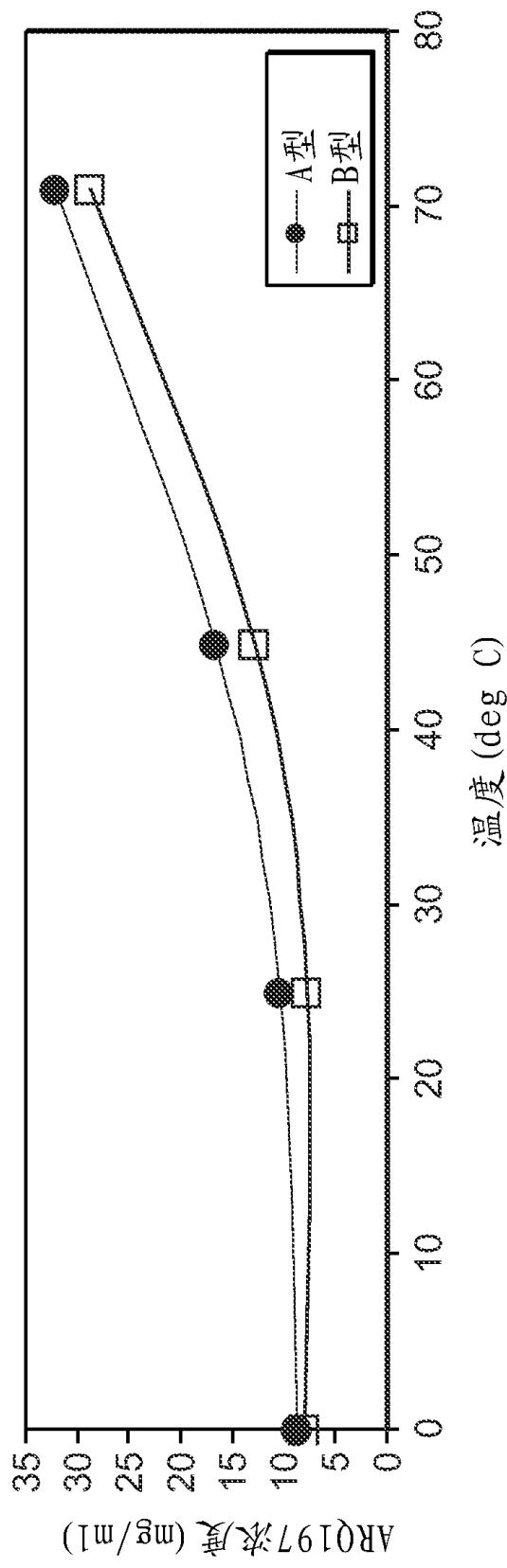


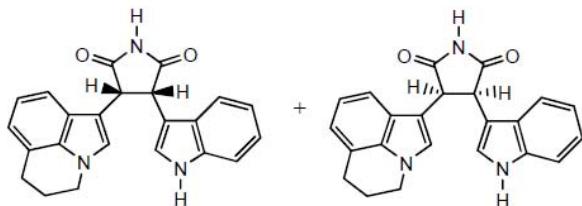
图 16



Abstract

The present invention relates to purified pyrroloquinolinyl-pyrrolidine-2,5-dione compositions and methods for preparing and using same. The present invention relates to a form 1 and form 2 polymorph of *(-)-trans*-3-(5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-yl)-4-(1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione. The present invention also relates to *(-)-trans*-3-(5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-yl)-4-(1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione compounds having a chiral purity greater than 99%, and methods of preparation of these compounds. The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising these *(-)-trans*-3-(5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-yl)-4-(1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2,5-dione compounds.

(\pm)-*cis*-3-(5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-yl)-4(1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione



(\pm)-*trans*-3-(5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinolin-1-yl)-4(1*H*-indol-3-yl) pyrrolidine-2, 5-dione.

